

**PENYIMPANAN BAWANG DAYAK
(*Eleutherine americana* Merr.) SECARA *IN VITRO* MELALUI
PERTUMBUHAN MINIMAL**

Oleh:
ARDHI YUDHA PRATAMA



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
MALANG**

2018

**PENYIMPANAN BAWANG DAYAK (*Eleutherine americana*
Merr.) SECARA *IN VITRO* MELALUI PERTUMBUHAN
MINIMAL**

Oleh:

**ARDHI YUDHA PRATAMA
115040201111316**

**MINAT BUDIDAYA PERTANIAN
PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
Gelar Sarjana Pertanian Strata Satu (S-1)**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
JURUSAN BUDIDAYA PERTANIAN
MALANG**

2018

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan disuatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain. Kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Malang, Agustus 2018

Ardhi Yudha Pratama



LEMBAR PERSETUJUAN

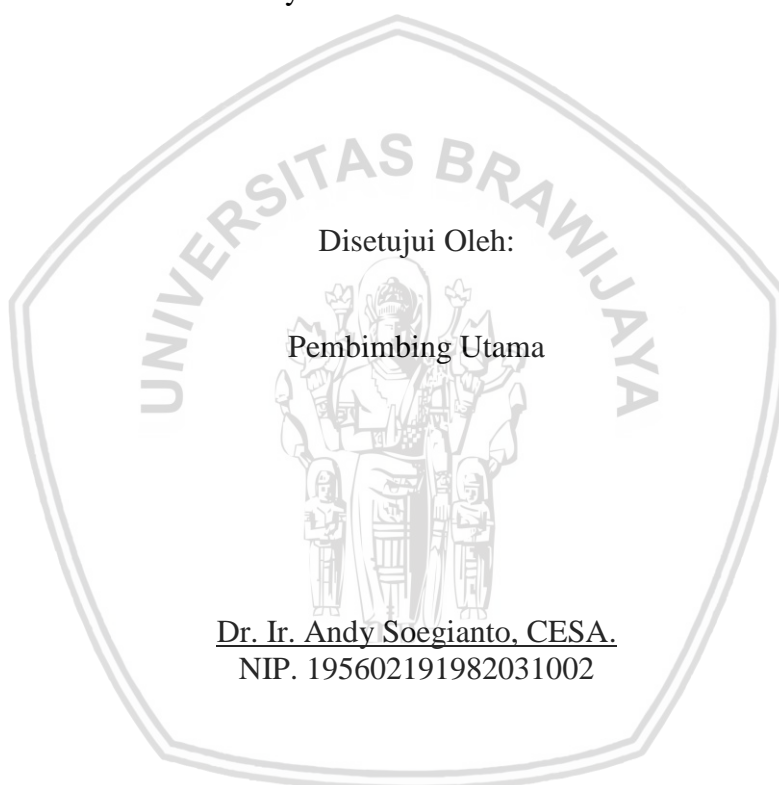
Judul penelitian : **Penyimpanan Bawang Dayak (*Eleutherine Americana* Merr.) Secara *In Vitro* Melalui Pertumbuhan Minimal**

Nama : Ardhi Yudha Pratama

NIM : 115040201111316

Program Studi : Agroekoteknologi

Minat : Budidaya Pertanian



Disetujui Oleh:

Pembimbing Utama

Dr. Ir. Andy Soegianto, CESA.
NIP. 195602191982031002

Diketahui,
Ketua Jurusan Budidaya Pertanian

Dr. Ir. Nurul Aini, MS.
NIP. 196010121986012001

LEMBAR PENGESAHAN

MENGESAHKAN

MAJELIS PENGUJI

Penguji I

Penguji II

Ir. Arifin Noor Sugiharto, M.Sc., Ph.D.
NIP. 196204171987011002

Dr. Ir. Andy Soegianto, CESA.
NIP. 195602191982031002

Penguji III

Dr. Noer Rahmi Ardiarini, SP., M.Si.
NIP. 197011181997022001

Tanggal Lulus :

RINGKASAN

Ardhi Yudha Pratama. 115040201111316. Penyimpanan Bawang Dayak (*Eleutherine americana* Merr.) Secara *In Vitro* Melalui Pertumbuhan Minimal. Di bawah bimbingan Dr. Ir. Andy Soegianto, CESA sebagai Pembimbing Utama.

Indonesia merupakan negara dengan kekayaan alam yang sangat melimpah atau dapat disebut juga dengan megadiversity. Terutama dalam keanekaragaman hayati, berbagai macam jenis tanaman ada disini mulai dari tanaman pangan, tanaman hias maupun tanaman obat. Menurut Wahyuni (2010) Indonesia memiliki lebih dari 3000 spesies tanaman, dimana lebih dari setengahnya adalah tanaman obat. Tanaman obat ini sangat penting bagi masyarakat Indonesia, saat ini mayoritas masyarakat masih memegang penuh tradisi lokal, terutama tradisi yang berhubungan dengan masalah kesehatan menggunakan tanaman sebagai obat. Pengobatan tradisional lebih dikenal dengan menggunakan jamu-jamuan dan telah melebur dengan kehidupan masyarakat melalui konsumsi sehari-hari.

Salah satu tanaman obat yang sering digunakan adalah bawang dayak (*Eleutherine americana* Merr.), tanaman ini banyak ditemukan di daerah Kalimantan. Manfaat yang diberikan tanaman ini sangat banyak diantaranya sebagai obat penyakit kanker, diabetes, tekanan darah tinggi bahkan bisul. Masyarakat tidak menyadari bahwa tanaman ini dari hari kehari semakin berkurang persediaannya di alam, dikarenakan pengambilannya yang secara berlebihan dan tidak ada usaha untuk membudidayakan tanaman ini. Di masa depan jika hal ini terus berlanjut maka tidak dapat dipungkiri tanaman ini akan punah, salah satu plasma nutfah tanaman obat yang banyak manfaatnya akan hilang begitu saja. Oleh karena itu diperlukan adanya usaha untuk mempertahankan keberadaannya yaitu dengan cara konservasi. Konservasi secara *in situ* sering dihadapkan kepada kendala teknis, baik dalam segi waktu maupun lingkungan. Oleh karena itu saat ini telah dikembangkan suatu cara konservasi *ex situ* dengan menggunakan teknik kultur jaringan.

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh komposisi media yang sesuai untuk penyimpanan secara *in vitro* tanaman bawang dayak. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember sampai dengan Mei 2018 di UPT Laboratorium Kultur Jaringan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya. Alat yang digunakan ialah sebagai berikut: *Laminar Airflow Cabinet* (LAFC), *autoclave*, *stearer*, *shaker*, timbangan analitik, botol kultur, gelas ukur, cawan petri, pipet, pinset, skalpel, gunting, pH meter, *tissue*, plastik, karet gelang, *handsprayer*, sarung tangan, bunsen, korek api, rak kultur yang dilengkapi lampu, lemari pendingin, alat tulis, kamera digital. Sedangkan untuk bahan-bahannya yaitu: umbi bawang dayak, bahan kimia yang digunakan meliputi media dasar MS, BAP, Paclobutrazol, manitol, aquades, larutan deterjen, baycline atau klorox, dithane (fungisida), bakterisida, spirtus, dan alkohol 70%. Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap yang terdiri dari 7 perlakuan yaitu: **P1** = MS, **P2** = $\frac{1}{2}$ MS + Sukrosa 6%, **P3** = MS + Paclobutrazol 1ppm, **P4** = MS + Paclobutrazol 3ppm, **P5** = MS + Paclobutrazol 5ppm, **P6** = MS + Manitol 2%, **P7** = MS + Manitol 4%. Setiap perlakuan diulang sebanyak 4 ulangan sehingga menjadi 28 satuan percobaan, setiap satuan percobaan terdiri dari sepuluh eksplan

bawang dayak, sehingga eksplan yang digunakan sejumlah 280 eksplan. Pengamatan dilakukan setiap hari, variabel yang diamati adalah jumlah tunas, jumlah daun, jumlah akar, waktu kemunculan tunas, waktu kemunculan akar, panjang tanaman, panjang akar, warna daun. Analisa data menggunakan uji F pada taraf 5%, jika hasil yang didapatkan berbeda nyata maka dilakukan uji lanjut dengan menggunakan BNT pada taraf 5%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi media MS dengan Paclobutrazol 3 ppm dapat menghambat kemunculan akar lebih lama, sedangkan kemunculan tunas dapat dihambat oleh perlakuan kombinasi media MS dengan Manitol, baik dengan konsentrasi 2% maupun 4%. Laju pertumbuhan tanaman rendah yang meliputi jumlah tunas, jumlah daun dan jumlah akar pada masa penyimpanan planlet bawang dayak akibat pemberian perlakuan kombinasi media MS dengan Manitol 2%. Panjang planlet dan panjang akar planlet bawang dayak paling rendah akibat pemberian perlakuan kombinasi media MS dengan Manitol 4%.



SUMMARY

Ardhi Yudha Pratama. 115040201111316. In Vitro Storage of Red Bulb Plant (*Eleutherine americana* Merr.) Under Minimal Growth Conditions. Under Guidance Dr. Ir. Andy Soegianto, CESA as a main supervisor.

Indonesia is a country with natural wealth that is very abundant or can also be called megadiversity. Especially in biodiversity, various types of plants are here starting from food crops, ornamental plants and medicinal plants. According to Wahyuni (2010) Indonesia has more than 3000 plant species, of which more than half are medicinal plants. This medicinal plant is very important for the people of Indonesia, currently the majority of people still hold full local traditions, especially traditions related to health problems using plants as medicine. Traditional medicine is better known for using herbs and has merged with people's lives through daily consumption.

One of the most commonly used medicinal plants is red bulb plant (*Eleutherine americana* Merr.), This plant is widely found in Kalimantan. The benefits provided by this plant are very many, including as a cure for cancer, diabetes, high blood pressure and even boils. The community does not realize that these plants from day to day are depleting their supply in nature, due to excessive uptake and no effort to cultivate these plants. In the future if this continues, it cannot be denied that this plant will become extinct, one of the many benefits of medicinal plant germplasm will disappear. Therefore, an effort is needed to maintain its existence by means of conservation. In situ conservation is often faced with technical constraints, both in terms of time and environment. Therefore, a method of ex situ conservation has been developed using tissue culture techniques.

This study aims to obtain a suitable media composition for storage in vitro red bulb plants. This research was conducted from December to May 2018 at the Tissue Culture Laboratory, Faculty of Agriculture, Brawijaya University. The tools used are as follows: Laminar Airflow Cabinet (LAF), autoclave, steamer, shaker, analytic scales, culture bottles, measuring cups, petri dishes, pipettes, tweezers, scalpels, scissors, pH meters, tissue, plastic, rubber bands, handsprayer, gloves, bunsen, matches, culture shelves equipped with lights, refrigerators, stationery, digital cameras. As for the ingredients, namely: Red bulb plant, the chemicals used include basic media MS, BAP, Paclobutrazol, mannitol, aquades, detergent solutions, baycline or chlorox, dithane (fungicides), bactericides, spirits, and 70% alcohol. The design used was a completely randomized design consisting of 7 treatments: P1 = MS, P2 = 1/2 MS + 6% Sucrose, P3 = MS + 1ppm Paclobutrazol, P4 = MS + 3ppm Paclobutrazol, P5 = MS + 5ppm Paclobutrazol, P6 = MS + Mannitol 2%, P7 = MS + Mannitol 4%. Each treatment was repeated 4 replications to 28 experimental units, each experimental unit consisted of ten red bulb plant explants, so that the explants used were 280 explants. Observations were made every day, the variables observed were number of shoots, number of leaves, number of roots, time of shoot appearance, time of root appearance, plant length, root length, leaf color. Analysis of the data using the F test at the level of 5%, if the results obtained are significantly different then carried out further testing using LSD at the level of 5%.

The results showed that the combination of MS medium with 3 ppm Paclobutrazol could inhibit the emergence of roots longer, while the appearance of shoots could be inhibited by the treatment of MS media combination with Manitol, both with a concentration of 2% and 4%. The low growth rate of plants including number of shoots, number of leaves and number of roots during storage of red bulb plantlets due to the treatment of MS media combination with 2% Mannitol. The length of the plantlets and the root length of red bulb plant plantlets were the lowest due to the treatment of MS media combination with 4% Mannitol.



KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada kehadiran Allah SWT yang atas rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dengan judul **“Penyimpanan Bawang Dayak (*Eleutherine americana* Merr.) Secara *In Vitro* Melalui Pertumbuhan Minimal”**.

Pada kesempatan kali ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr.Ir. Andy Soegianto, CESA selaku dosen pembimbing skripsi atas bimbingan, kesabaran, motivasi dan waktu hingga terselesaikannya skripsi ini.
2. Niken Kendarini, SP., MSi selaku pembimbing pendamping yang telah mendampingi penulis dan membantu dalam menyediakan bahan penelitian sehingga penelitian dapat berjalan dengan baik.
3. Ir. Arifin Noor Sugiharto, M.Sc.Ph.D sebagai pembahas atas masukan ilmu, kritik dan sarannya.
4. Pengurus Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya, Bapak Kasiadi dan Ibu Titik yang telah banyak membantu kegiatan penelitian ini.
5. Romo, Biyung dan keluarga tercinta, yang telah banyak memberikan dukungan baik moril maupun material.
6. Teman-teman dan sahabat seperjuangan yang tidak dapat disebutkan satu persatu serta semua pihak yang telah turut membantu dalam mengerjakan penulisan hasil penelitian ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu, segala kritik dan saran yang bersifat membangun sangat diharapkan demi kesempurnaan penyusunan hasil penelitian selanjutnya. Semoga informasi yang terangkum dalam skripsi ini, bermanfaat untuk semua kalangan.

Malang, Agustus 2018

Penulis

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Pasuruan pada tanggal 19 Februari 1993 sebagai putra pertama dari dua bersaudara dari Bapak Jaka dan Ibu Siti Mu'arifah.

Penulis menempuh pendidikan dasar di SDN Kedungringi III pada tahun 1999 sampai tahun 2005, kemudian penulis melanjutkan ke SMPN 1 Bangil pada tahun 2005 dan selesai pada tahun 2008. Pada tahun 2008 sampai tahun 2011 penulis melanjutkan studi di MAN Bangil. Pada tahun 2011 penulis terdaftar sebagai mahasiswa Strata 1 Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang, Jawa Timur, melalui jalur SNMPTN.

Selama menjadi mahasiswa penulis pernah bergabung dengan IYW (Indonesian Youth Water) sebagai staff Public Relation pada periode 2012 - 2013, editor majalah mingguan Asy-Syaafiyah pada tahun 2013 dan surveyor dalam CRASH PROGRAM PERHUTANI di KPH Bojonegoro pada tahun 2014. Selain aktif dalam kegiatan organisasi, penulis juga aktif dalam kegiatan kepanitiaan seperti PRIMORDIA, CARNIVAL, dan KALDERA.

DAFTAR ISI

RINGKASAN	i
SUMMARY	iii
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar belakang	1
1.2 Tujuan.....	2
1.3 Hipotesis	2
2. TINJAUAN PUSTAKA.....	3
2.1 Bawang Dayak.....	3
2.2 Kultur Jaringan	5
2.3 Kultur Jaringan Famili Iridaceae	7
2.4 Pertumbuhan Minimal	8
2.5 Zat Pengatur Tumbuh	10
2.5.1 Auksin.....	10
2.5.2 Sitokinin	11
2.6 Teknik Penghambat Pertumbuhan.....	13
2.6.1 Paclobutrazol	13
2.6.2 Manitol	14
2.6.3 Sukrosa	14
3. BAHAN DAN METODE.....	16
3.1 Waktu dan Tempat.....	16
3.2 Alat dan Bahan	16
3.3 Metode Penelitian	16
3.4 Pelaksanaan Penelitian	17
3.4.1 Sterilisasi Alat, Media dan Lingkungan Kerja	17
3.4.2 Pembuatan Larutan Stok.....	18
3.4.3 Pembuatan Media	18
3.4.4 Penanaman Eksplan.....	19
3.4.5 Pemeliharaan	20
3.5 Pengamatan Penelitian.....	20
3.6 Analisis Data.....	21
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	22
4.1 Hasil.....	22
4.2 Pembahasan.....	31
5. KESIMPULAN DAN SARAN	38
5.1 Kesimpulan.....	38
5.2 Saran	38
DAFTAR PUSTAKA	39
LAMPIRAN.....	44

DAFTAR GAMBAR

No.	Teks	Halaman
1.	Umbi bawang dayak berwarna merah gelap	4
2.	Bentuk daun bawang dayak	4
3.	Letak bunga bawang dayak.....	5
4.	Denah pengacakan botol kultur	17



DAFTAR TABEL

No.	Teks	Halaman
1.	Analisis ragam	21
2.	Waktu Kemunculan Tunas dan Akar pada Planlet Bawang Dayak	22
3.	Jumlah Tunas pada Planlet Bawang Dayak	27
4.	Jumlah Daun pada Planlet Bawang Dayak	27
5.	Jumlah Akar pada Planlet Bawang Dayak	28
6.	Panjang Planlet dan Panjang Akar Planlet Bawang Dayak	29
7.	Warna Daun pada Planlet Bawang Dayak	30



DAFTAR LAMPIRAN

No.	Teks	Halaman
1.	Komposisi media Murashige-Skoog	44
2.	Perhitungan Kebutuhan ZPT	45
3.	Analisis ragam waktu kemunculan tunas, waktu kemunculan akar, jumlah tunas, jumlah daun, jumlah akar, panjang tanaman, panjang akar	46
4.	Dokumentasi Penelitian	51



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Pemanfaatan bahan baku obat tradisional oleh masyarakat mencapai lebih kurang 1000 jenis, dimana 74% diantaranya merupakan tumbuhan liar yang hidup di hutan. Kegiatan eksploitasi tanaman liar secara berlebihan melebihi kemampuan regenerasi dari tanaman dan tanpa disertai usaha budidaya, akan mengganggu kelestarian tanaman tersebut (Atun, 2010). Akibatnya banyak tumbuhan yang terancam punah atau paling tidak sudah sulit dijumpai di alam Indonesia, oleh karena itu diperlukan sebuah cara untuk melestarikan tanaman, baik secara konvensional maupun dengan sentuhan teknologi yang nantinya diharapkan untuk mendapatkan tanaman berkuantitas dan kualitas yang lebih baik dari sebelumnya.

Salah satu tanaman yang digunakan sebagai obat adalah bawang dayak. Galingging (2007) menyatakan bahwa umbi bawang dayak dapat mengatasi beberapa keluhan seperti kanker usus, kanker payudara, diabetes mellitus, tekanan darah tinggi, stroke, menurunkan kolesterol, radang usus, disentri, sembelit, luka, bisul, diuretik dan antimelanogenesis. Namun, menurut Indrawati (2013) tanaman bawang dayak merupakan tanaman yang langka dengan kategori *endangered* tau hampir punah. Pada habitat aslinya yakni di hutan, sudah mulai jarang dijumpai tanaman ini dikarenakan masyarakat yang secara terus menerus mengambil dari hutan tanpa ada yang membudidayakan, selain itu adanya perubahan penggunaan lahan juga berdampak pada ketersediaan tanaman ini.

Pencegahan terjadinya kepunahan perlu dilakukan dengan konservasi secara *ex situ*. Konservasi *ex situ* tanaman membiak vegetatif umumnya berupa koleksi tanaman hidup di lapang, penyimpanan dalam bentuk organ vegetatif, dan penyimpanan secara *in vitro*. Menurut Mariska *et al.*, 1996 (dalam Dewi, 2002) konservasi *ex situ* di lapang juga mengalami resiko hilangnya populasi tanaman yang dikarenakan cekaman biotik (organisme pengganggu tanaman) dan abiotik (kekeringan, banjir atau kebakaran). Pemeliharaan tanaman di lapangan juga membutuhkan tenaga, waktu, area dan biaya yang besar. Sementara itu penyimpanan tanaman dalam organ vegetatif membutuhkan ruangan yang cukup

luas dan terkadang cepat bertunas atau membusuk. Dengan demikian penyimpanan secara *in vitro* lebih sesuai untuk diterapkan.

Penyimpanan secara *in vitro* mempunyai beberapa kelebihan seperti tidak memerlukan areal yang luas, bebas dari gangguan hama dan penyakit (patogen, virus), pengontrolan lebih mudah. Menurut Mariska dan Sukmadjaya (2003) kelebihan teknik kultur jaringan dibandingkan dengan metode konvensional adalah, (1) tidak tergantung musim, (2) bahan tanaman yang digunakan relatif sedikit sehingga tidak merusak tanaman induk, (3) tanaman yang dihasilkan bebas dari penyakit, dan (4) tidak membutuhkan tempat yang luas untuk menghasilkan tanaman dalam jumlah banyak. Penyimpanan secara *in vitro* sebagai koleksi aktif dapat diterapkan dengan menggunakan teknik pertumbuhan minimal untuk penyimpanan jangka menengah (Withers, 1985 dalam Laisina; 2009). Pada umumnya teknik pertumbuhan minimal untuk jangka menengah menggunakan senyawa penghambat pertumbuhan seperti paclobutrazol, cicocel, ancimidol dan inhibitor asam absisat serta komponen osmotik seperti sorbitol atau manitol (Chawla, 2002). Oleh karena itu, perlu adanya kajian penggunaan konsentrasi dan kombinasi zat penghambat tumbuh yang efektif untuk menyimpan bawang dayak secara *in vitro* dalam jangka waktu yang lama.

1.2 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh komposisi media penyimpanan secara *in vitro* yang sesuai bagi tanaman bawang dayak.

1.3 Hipotesis

Terdapat komposisi media penyimpanan secara *in vitro* yang sesuai untuk tanaman bawang dayak.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bawang Dayak

Bawang dayak (*Eleutherine americana* Merr.) merupakan tanaman yang berasal dari amerika, termasuk dalam famili *Iridaceae*. Tanaman ini dibudidayakan dengan berbagai tujuan, menurut kegunaannya tanaman bawang dayak dikelompokkan menjadi tanaman hias dan tanaman obat. Galingging (2007) berpendapat selain sebagai tanaman obat, bawang dayak ini juga dimanfaatkan sebagai tanaman hias. Bawang dayak juga dikenal dengan bawang sabrang, bawang siyem (Sunda), brambang sabrang (Jawa).

Bawang Dayak (*Eleutherine americana* Merr.) adalah salah satu jenis tanaman yang berkhasiat bagi kesehatan dan banyak ditemukan di daerah kalimantan. Tanaman ini banyak dibudidayakan dan diintroduksi di Afrika, Malaysia, Indonesia (Kalimantan, Jawa Barat) dan Filipina (Luzon, Leyte, Negros, Mindanao) (Anonymous, 2018). Tanaman ini dimanfaatkan oleh masyarakat Kalimantan Tengah sebagai obat. Tanaman ini mempunyai kemampuan untuk beradaptasi pada kondisi lingkungan yang beragam. Tanaman ini dapat menyembuhkan penyakit kanker usus, kanker payudara, diabetes melitus, hipertensi, menurunkan kolesterol, obat bisul, *stroke* dan sakit perut sesudah melahirkan. Khasiat dari tanaman bawang dayak di antaranya sebagai antikanker payudara, mencegah penyakit jantung, *immunostimulant*, antinflamasi, antitumor serta anti *bleeding agent* (Saptowalyono, 2015). Menurut (Anonymous, 2016) suku dayak menggunakan tanaman ini untuk mengobati berbagai macam penyakit seperti kanker, tekanan darah tinggi, diabetes mellitus, kolesterol dan bisul.

Bawang dayak merupakan tanaman herba binneal, tumbuh sebagai tanaman semusim yang dimanfaatkan umbinya, mempunyai tinggi 26-50 cm. Tanaman ini tumbuh merumpun padat seperti daun anggrek tanah. Tanaman ini mempunyai bentuk dan jenis yang beragam layaknya bawang merah, bawang putih dan berbagai jenis bawang lainnya. Ciri spesifik tanaman ini adalah umbi tanaman berwarna merah gelap (Gambar 1) dengan permukaan yang berbulu halus, berbentuk kerucut.

Akar bawang dayak berupa akar serabut dengan sistem perakaran dangkal dan bercabang terpisah, memiliki batang sejati berbentuk seperti cakram, tipis dan pendek sebagai tempat melekatnya akar.



Gambar 1. Umbi bawang dayak berwarna merah gelap

Daun bawang dayak mempunyai panjang antara 15-25 cm, berwarna hijau muda hingga hijau tua. Letak daun berpasangan dengan komposisi daun bersirip ganda,. Tipe pertulangan daun sejajar dengan tepi daun licin dan daun pipih berbentuk pita bergaris serta memiliki ujung daun berbentuk lancip (Gambar 2).



Gambar 2. Bentuk daun bawang dayak

Bunga bawang dayak merupakan bunga tunggal berwarna putih, terletak diujung didalam rumpun bunga (tandan) yang didukung oleh daun penumpu seperti pelepah, terdiri dari 4 sampai 10 bunga. Bunga mekar menjelang sore dan menutup kembali pada malam hari sekitar pukul 7 malam. Panjang tangkai ± 40 cm, bentuk silindris, kelopak terdiri dari dua daun kelopak, hijau kekuningan. Mahkota terdiri dari empat daun mahkota berwarna putih, saling lepas dan panjang ± 5 mm, benang sari empat. Kepala sari berwarna kuning, putik

berbentuk jarum dengan panjang ± 4 mm berwarna putih kekuningan (Anonymous, 2017).

Tanaman ini dapat tumbuh pada ketinggian 0-200 mdpl dengan tanah yang subur, gembur dan banyak mengandung bahan organik dengan derajat keasaman antara 5,5-6,6 serta memiliki drainase yang baik. Yusuf, 2009 (dalam Siregar, 2013) mengemukakan bahwa pertumbuhan bawang dayak terbaik ditunjukkan pada tekstur tanah lempung berliat. Suhu udara yang baik untuk pertumbuhan tanaman bawang dayak antara 25-32°C, tempat terbuka dengan intensitas sinar matahari minimal 70%. Hasil penelitian Yusuf, 2009 (dalam Anggraini, 2013) menunjukkan bahwa tanaman bawang dayak menyukai cahaya penuh dan berproduksi lebih baik pada kondisi tersebut. Tanaman bawang sabrang dengan penanaman (55%, 65%, dan 75%) mengakibatkan penurunan produksi per sampel masing-masing 25.1%, 33.9% dan 42.9% serta menurunkan produksi per plot masing-masing 24.5%, 22.7% dan 34.3% dibandingkan dengan tanpa naungan.



Gambar 3. Letak bunga bawang dayak

2.2 Kultur Jaringan

Kultur jaringan atau kultur *in vitro*, merupakan suatu cara mengisolasi bagian tanaman berupa sel, jaringan, atau organ tanaman lainnya yang ditumbuhkan dalam kultur aseptik, sehingga bagian-bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman lengkap kembali. Menurut Caponetti *et al.*, (2005) bidang kultur jaringan tanaman berlandaskan pada pemikiran bahwa suatu tanaman dapat dipisah-pisahkan menjadi masing-masing komponen bagian (organ, jaringan, sel), yang dapat dimanipulasi secara *in vitro*

untuk kemudian ditumbuhkan kembali sebagai tanaman yang lengkap. Teknologi kultur jaringan adalah teknik mengisolasi bagian tanaman sebagai bahan awal dan ditumbuhkan pada media yang aseptik dengan kondisi lingkungan yang terkontrol, sehingga bagian-bagian tersebut dapat tumbuh menjadi individu baru yang utuh (Dagla, 2012 dalam Yelli; 2013). Penelitian-penelitian telah dilakukan untuk berbagai tujuan seperti produksi metabolit sekunder, peningkatan keragaman genetik, atau perbaikan karakter suatu sifat tanaman.

Teknik kultur jaringan tanaman terdiri dari beberapa tahapan yang secara umum terdiri dari: tahap persiapan, tahap inisiasi kultur, tahap multiplikasi tunas, tahap pemanjangan tunas, induksi akar dan perkembangan akar dan tahap terakhir berupa pemindahan ke rumah kaca (aklimatisasi). Menurut Yuwono (2006) untuk mengembangkan tanaman secara *in vitro* sampai menjadi plantlet dan akhirnya menjadi tanaman lengkap yang siap dipindah ke medium tanah, maka terdapat beberapa tahapan utama yang harus dilakukan, yaitu: (1) pemilihan sumber tanaman yang akan digunakan sebagai bahan awal (jaringan meristem, eksplan, dan lain-lain), (2) penanaman dalam medium yang sesuai sampai terjadi perbanyakan (misalnya dalam bentuk kalus), (3) pembentukan tunas dan akar sampai terbentuk plantlet, (4) aklimatisasi, yaitu proses adaptasi di luar sistem *in vitro*, (5) penanaman pada medium biasa (tanah).

Bagian tanaman seperti sel, jaringan, dan organ yang masih muda dan aktif melakukan pembelahan dapat dibiakkan dan dikulturkan secara aseptik melalui kultur jaringan. Secara umum terdapat tiga sumber yang digunakan dalam perbanyakan mikro untuk menghasilkan plantlet, yaitu (1) meristem, (2) apex, dan (3) nodus (node). Meristem, apex dan nodus dapat dikulturkan menjadi tunas. Tunas yang dihasilkan selanjutnya dapat digunakan sebagai sumber untuk menghasilkan tunas-tunas baru dengan menggunakan percabangan axilari. Tunas-tunas tersebut kemudian dapat dikembangkan lebih lanjut sehingga terbentuk perakaran dan akhirnya menjadi plantlet (Yuwono, 2006).

Salah satu teknik yang dilakukan dalam kultur jaringan yaitu subkultur. Subkultur merupakan suatu proses pemindahan bahan tanam ke media yang baru, baik media yang sama maupun media yang komposisi kimianya berbeda. Subkultur dilakukan apabila bahan tanam sudah memenuhi botol kultur serta

unsur hara yang ada telah habis. Subkultur dapat menjadi kebutuhan untuk memperbanyak tanaman dan mempertahankan kultur (George dan Sherrington, 1984 dalam Laisina; 2009). Pierik, 1987 (dalam Dewi, 2002) juga menyatakan bahwa subkultur perlu dilakukan jika unsur hara dan hormon yang terdapat pada media telah berkurang atau habis, untuk merubah pola pertumbuhan dan perkembangan kultur, serta bila kultur telah memenuhi botol kultur.

Dalam penerapannya, kultur *in vitro* tidaklah semudah yang dibayangkan, terkadang ada penghambatnya, yakni kontaminasi. Kontaminasi dapat berasal dari eksplan, organisme kecil yang masuk dalam kultur, alat tanam yang kurang steril, lingkungan kerja yang kurang higienis, dan kecerobohan dalam pelaksanaan.

2.3 Kultur Jaringan Famili Iridaceae

Teknik kultur jaringan untuk famili Iridaceae telah banyak dilakukan tetapi penelitian kultur jaringan untuk *Eleutherine americana* Merr. belum dilakukan. Secara umum pada tanaman yang membentuk umbi, multiplikasi akan berlangsung pada kondisi-kondisi tertentu dalam hal ini dipengaruhi oleh berbagai faktor diantaranya: cahaya, suhu, media kultur dan zat pengatur tumbuh (Mujica dan Magollon, 2004).

Zhuo dan Sun, 1986 (dalam Lasmita, 1989) melakukan mikropropagasi pada tanaman gladiol dengan menggunakan eksplan berupa pucuk tanaman. Planlet dapat tumbuh normal pada media MS yang berisi BAP dan NAA dengan konsentrasi masing-masing 0,5 – 1 mg/l dan 0,1 – 0,5 mg/l. Pembentukan tunas diamati setiap hari, didapati hasil yang cukup memuaskan yakni tunas yang terbentuk berukuran 4 – 5cm pada akhir pengamatan. Selain itu Ziv, 1979 (dalam Lasmita, 1989) melakukan kultur jaringan mata tunas *Gladiolus* cv. Eurovision pada media MS dengan penambahan kinetin 2 mg/l dan 0,1 mg/l NAA berhasil menginduksi 5 – 8 tunas baru dengan tinggi tunas rata-rata 25 mm.

Ginzburg dan Ziv, 1973 (dalam Lasmita, 1989) berhasil menginduksi tunas *Gladiolus* cv. White friendship dari eksplan umbi. Pada penelitian tersebut selain menghasilkan tunas juga menghasilkan umbi dengan memberikan 0,1-5 mg/l BAP dan 0,5 mg/l NAA dalam media MS. Setiap eksplan menghasilkan 5-10 tunas. Pembentukan umbi dimulai ketika eksplan berumur 3-4 minggu. Mir *et al.*, 2014 berhasil mengkulturkan *Crocus sativus* L dengan pembentukan umbi mikro

pada setiap perlakuan, perlakuan terbaik diperoleh dengan komposisi media MS dengan penambahan 2 mg/l BAP; 0,5 mg/l NAA dan paclobutrazol 1,5 mg/l. Ayse dan Ismail (2014) telah melakukan konservasi secara *in vitro* pada tanaman *Iris pampylica* dan berhasil menginduksi tunas dengan menggunakan eksplan yang berasal dari umbi yang mengandung basal plate dalam media kultur yang tersusun dari 2 mg/l BAP dan 0,25 mg/l NAA. Nasircilar *et al.*, 2011 (dalam Ayse dan Ismail, 2014) telah berhasil melakukan regenerasi *Iris stenophylla* secara *in vitro* menggunakan eksplan umbi yang mengandung basal plate pada media MS dengan penambahan 1,2,4 mg/l BAP dan 0.25 mg/l NAA. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa komposisi media dengan penambahan 1 mg/l BAP dan 0,25 mg/l NAA adalah yang terbaik dalam pembentukan tunas.

2.4 Pertumbuhan Minimal

Penyimpanan plasma nutfah secara *in vitro* menurut Imelda dan Soetisna, 1992 (dalam Laisina, 2009), terbagi atas dua kelompok, yaitu kelompok yang diperbanyak dengan biji (berbiji rekalsitran dan ortodoks) dan kelompok yang diperbanyak secara vegetatif.

Pelestarian plasma nutfah melalui penyimpanan *in vitro* terbagi atas 1) penyimpanan jangka panjang dimana aktivitas metabolisme dihentikan tetapi sel-sel tidak mati dengan menggunakan nitrogen cair dalam suhu yang sangat rendah, teknik ini dikenal dengan istilah kriopreservasi. 2) Penyimpanan jangka pendek yaitu dengan cara eksplan dikondisikan tumbuh dalam keadaan suboptimal dimana pertumbuhan berlangsung sangat lambat atau biasa disebut pertumbuhan minimal menggunakan suhu rendah, penambahan zat penghambat, penambahan gula alkohol dan pemiskinan media. Pertumbuhan minimal lebih disukai pemulia karena mudah, bahan tersedia dan genetik plasma nutfah stabil.

Penyimpanan plasma nutfah secara *in vitro* mempunyai beberapa kelebihan antara lain: 1) tidak membutuhkan tempat yang luas, 2) dapat menghemat tenaga dan biaya, 3) tidak menghadapi resiko kehilangan genotip akibat gangguan hama, penyakit dan cekaman lingkungan, 4) memudahkan dalam pertukaran atau pengiriman bahan tanaman kepada pengguna, 5) memudahkan dalam pengambilan tindakan perbaikan apabila terjadi kemunduran pada koleksi, 6) memudahkan perbanyakan (Mariska *et al*, 1996 dalam Dewi; 2002).

Beberapa faktor yang dapat digunakan untuk pertumbuhan minimal adalah:

1. Menurunkan temperatur inkubasi ($4 - 12^{\circ}\text{C}$) atau (20°C). Sebelum perlakuan, tunas dikultur terlebih dahulu selama 3 – 4 minggu pada kondisi pertumbuhan standar, setelah itu dipindahkan ke kondisi perlakuan dengan fotoperiodisitas 16 jam dan intensitas cahaya rendah, sekitar 50 lux (Chawla, 2002 dalam Agustarini; 2009).
2. Mengurangi atau menghilangkan beberapa faktor esensial untuk pertumbuhan normal seperti pengenceran media dasar dan mengurangi konsentrasi zat pengatur tumbuh.
3. Meningkatkan tekanan osmotik dengan menambahkan bahan osmotik seperti gula alkohol (manitol atau sorbitol) untuk menghambat pembelahan sel. Dengan adanya bahan osmotik maka potensial osmotik media menjadi lebih rendah dan menyebabkan penyerapan unsur hara oleh sel tanaman menjadi lambat (Bessembinder *et al.*, 1993 dalam Dewi; 2002).
4. Menambahkan inhibitor asam absisat dan zat penghambat tumbuh (retardan) ancymidol, cycocel, atau paclobutrazol untuk menghambat pembelahan dan pemanjangan sel (Withers, 1985 dalam Dewi; 2002).

Penyimpanan dengan menurunkan temperatur sudah banyak memberikan hasil, beberapa keuntungan dari penyimpanan tersebut menurut Mariska *et al.*, 1996 (dalam Dewi, 2002) antara lain: (a) suhu rendah menghambat pertumbuhan dan perkembangan tanaman secara alami, dan secara nyata dapat memperpanjang masa simpan; (b) tingkat mutasi pada biakan lebih rendah; (c) lebih praktis sehingga memungkinkan penyediaan plasma nutfah yang siap dimanfaatkan setiap waktu, dan (d) bahan tanaman yang disimpan dapat dipertahankan dalam keadaan haploid karena pada suhu lebih tinggi akan merubah bahan tanaman menjadi diploid. Namun metode tersebut sulit dilakukan di negara-negara berkembang disebabkan mahalnya fasilitas penyimpanan dengan suhu yang dapat diatur, juga pasokan listrik yang kadang-kadang sering terganggu. Beberapa tanaman yang sudah berhasil disimpan menggunakan temperatur rendah antara lain: kentang, ubi kayu dan ubi jalar, pisang, apel (Wilkins dan Dodds, 1983 dalam Agustarini; 2009). Namun metode yang paling banyak diterapkan adalah dengan

menggunakan zat penghambat pertumbuhan (retardan), inhibitor osmotik, pengenceran media atau kombinasinya.

2.5 Zat Pengatur Tumbuh

Zat pengatur tumbuh (ZPT) adalah senyawa organik yang mampu meningkatkan, menghambat atau secara kualitatif mengubah pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Gaba, 2005 (dalam Lestarini, 2011) mendefinisikan ZPT sebagai suatu zat sintetis yang digunakan untuk memacu pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Tanpa penambahan zat pengatur tumbuh dalam media tanam dapat dimungkinkan pertumbuhan sangat terhambat bahkan mungkin tidak tumbuh sama sekali. Pembentukan kalus dan organ-organ ditentukan oleh penggunaan yang tepat dari zat pengatur tumbuh (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Zat pengatur tumbuh dikelompokkan kedalam enam jenis yang meliputi auksin, giberelin (GA), sitokinin, asam absisik (ABA), etilen, dan retardan (Armini *et al.*, 1991 dalam Alitalia; 2008).

Dua golongan zat pengatur tumbuh yang sangat penting dalam kultur jaringan adalah sitokinin dan auksin. Interaksi dan perimbangan antara zat pengatur tumbuh yang diberikan dalam media dan yang diproduksi oleh sel secara endogen menentukan arah perkembangan suatu kultur. Penambahan auksin atau sitokinin eksogen, mengubah level zat pengatur tumbuh sel.

2.5.1 Auksin

Auksin digunakan secara luas dalam kultur jaringan untuk merangsang pembentukan tunas, merangsang pemanjangan sel, suspensi sel dan organ. Pemilihan jenis auksin dan konsentrasinya tergantung atas tipe pertumbuhan yang dikehendaki, kandungan auksin endogen, dan kemampuan jaringan mensintesis auksin. Auksin yang secara alami terdapat dalam tumbuhan adalah *Indole-3-Acetic Acid* (IAA). Bentuk-bentuk auksin eksogen yang biasa ditambahkan ke dalam media kultur adalah 2,4-D, IBA, NAA, dan IAA.

Zat pengatur tumbuh NAA merupakan ZPT yang sering digunakan dalam kultur jaringan. Jika penggunaan konsentrasi NAA lebih tinggi dibandingkan konsentrasi sitokinin, maka dapat mempercepat inisiasi akar. Auksin dalam konsentrasi rendah akan memacu tunas adventif sedangkan konsentrasi tinggi mendorong terbentuknya akar (Pierik, 1987 dalam Dewi; 2002).

NAA memiliki sifat kimia lebih stabil dibanding IAA dan tidak mudah teroksidasi oleh enzim. Anwar, 2007 (dalam Alitalia, 2008) menyatakan bahwa NAA merupakan auksin sintetik yang sering digunakan karena memiliki sifat yang lebih tahan, tidak terdegradasi dan lebih murah.

Pengaruh fisiologi auksin NAA terjadi pada pemanjangan sel dimana NAA merangsang pemanjangan sel dan juga akan berakibat pada pemanjangan koleoptil dan batang. Distribusi NAA yang tidak merata dalam batang dan akar akan menimbulkan pembesaran sel yang tidak sama disertai dengan pembengkakan organ. Sel-sel meristem dalam kultur kalus dan struktur organ juga tumbuh akibat pengaruh dari NAA.

Dewo, 2003 (dalam Priatna, 2004) menyatakan bahwa pada penelitian bawang merah konsentrasi 0,5 mg/l NAA menghasilkan nilai rata-rata tertinggi untuk jumlah akar, jumlah daun, tinggi tunas dan panjang akar. Septiari (2003) juga menambahkan bahwa konsentrasi tunggal NAA 0,5 mg/l menghasilkan jumlah tunas, jumlah daun dan panjang daun bawang merah varietas sumenep terbaik.

2.5.2 Sitokinin

Sitokinin adalah turunan dari adenin. Golongan ini sangat penting dalam pengaturan pembelahan sel dan morfogenesis. Wiendi *et al.*, (1991 dalam Yudhanto, 2012) memperkuat gagasan tersebut dengan menyatakan bahwa pembelahan mitosis tidak akan terjadi tanpa sitokinin. Ketika periode pembelahan sel dan pembesaran di dalam benih (embrio dan endosperma) sitokinin dibentuk dengan konsentrasi yang tinggi. Sitokinin mempercepat terjadinya sitokinesis (Bewley dan Black, 1994 dalam Yudhanto; 2012). Sitokinin berperan dalam pengaturan pembelahan sel dan morfogenesis. Aktivitas utama sitokinin adalah mendorong pembelahan sel, menginduksi pertumbuhan tunas adventif dan dalam konsentrasi tinggi menghambat inisiasi akar (Pierik, 1987 dalam Dewi; 2002). Sitokinin digunakan untuk merangsang pembentukan tunas dan memecah dormansi sel (Hartmann *et al.*, 1997 dalam Septiari; 2003).

Gaba, 2005 (dalam Lestarini, 2011) mengungkapkan bahwa sitokinin berguna dalam mikropropagasi tanaman. Mikropropagasi sendiri dapat diartikan sebagai teknik produksi massal tanaman secara *in vitro* yang diawali dengan

induksi pucuk dan tunas yang diikuti oleh pembentukan akar tanaman. Dengan penggunaan sitokinin yang tepat maka multiplikasi tanaman dapat dipacu dan bentuk tak stabil seperti kalus dapat dikurangi. Multiplikasi tunas yang diinduksi oleh aplikasi sitokinin pada dasarnya akan memecah dominansi apikal pada tanaman, sehingga pertumbuhan tunas aksilar akan terstimulasi. Hal ini didukung oleh Wattimena *et al.*, 1992 (dalam Laisina; 2009) yang mengungkapkan bahwa pengaruh dominansi meristem apikal dapat dihilangkan dengan menambahkan zat pengatur tumbuh ke dalam medium aseptik. Sebagai hasilnya adalah tunas dengan jumlah cabang yang cukup banyak.

Sitokinin yang biasa digunakan dalam kultur jaringan yaitu: kinetin (6-*furfuryl amino purine*), zeatin, 2iP, BAP, PBA, 2C 1-4 PU, 2.6-C1-4 dan *thidiazuron* (TDZ). Penggunaan sitokinin dalam konsentrasi yang melebihi auksin dapat mempercepat inisiasi tunas, sedangkan jika keduanya digunakan dalam konsentrasi yang berimbang cenderung membentuk kalus.

Wattimena, 1988 (dalam Laisina, 2009) menyatakan bahwa BAP merupakan turunan adenin yang disubstitusi pada posisi 6 adalah yang memiliki aktivitas kimia paling aktif. BAP merupakan sitokinin sintetik generasi pertama yang memberikan respon perangsang pembungaan, pembuahan, dan pembelahan sel. Menurut Arteca, 1993 (dalam Dinarti, 2012) BAP bersifat stabil, relatif lebih murah dibandingkan sitokinin lainnya.

Hasil penelitian Maryani dan Zamroni (2005), pada penggandaan tunas krisan secara *in vitro* apabila perlakuan tanpa BAP ternyata memberikan jumlah akar banyak dan kecenderungan jumlah akar menurun dengan meningkatnya konsentrasi BAP. Keadaan ini menyatakan bahwa BAP mampu menekan pertumbuhan akar. Kemampuan menghambat pertumbuhan akar ini sangat penting dalam penggandaan tunas atau multiplikasi. Perlakuan tunggal BAP berpengaruh nyata terhadap seluruh variable pengamatan kecuali pada variable tinggi tunas. Konsentrasi 3 mg/l BAP terbaik untuk merangsang jumlah tunas bawang merah sebanyak 4,9 tunas (Dewo, 2003 dalam Priatna; 2004).

Sukmawati (2009) mengatakan bahwa embrio somatik tanaman melon berhasil di induksi pada perlakuan 1.0 mg/L 2,4-D + 0.1 mg/L BAP, 2.0 mg/L picloram + 0.1 mg/L BAP, 1.0 mg/L dan 2.0 mg/L NAA tanpa BAP maupun yang

dikombinasikan dengan BAP. Jumlah eksplan yang menghasilkan embrio tertinggi yaitu pada perlakuan 1.0 mg/L dan 2.0 mg/L NAA tanpa BAP sebesar 0.77 eksplan. Jumlah embrio per eksplan yang tertinggi terbentuk pada perlakuan 2.0 mg/L NAA tanpa BAP yaitu sebesar 1.35 embrio.

2.6 Teknik Penghambat Pertumbuhan

Pertumbuhan minimal tanaman dapat dilakukan dengan menambahkan zat penghambat tumbuh. Zat penghambat tumbuh tanaman adalah senyawa organik yang menghambat perpanjangan batang, meningkatkan warna hijau daun, dan secara tidak langsung mempengaruhi pembungaan tanpa menyebabkan pertumbuhan abnormal (Cathey, 1975 dalam Dinarti, 2012). Zat penghambat tumbuh (retardan) menyebabkan perubahan biokimia dalam sel seperti stimulasi aktivitas peroxidase dan IAA oksidase, penghambatan respirasi, meningkatkan permeabilitas membran, penghambatan oksidasi tryptomin menjadi indole acetaldehyde, dan meningkatkan fotosintesis tanaman (Harjadi, 2009).

2.6.1 Paclobutrazol

Paclobutrazol termasuk zat pengatur tumbuh golongan retardan yang berpengaruh terhadap metabolisme tanaman pada meristem sub apikal. Paclobutrazol merupakan zat pengatur tumbuh yang telah dibuktikan dapat mempengaruhi ketegaran planlet dan menambah butir-butir klorofil. Akar dan batang menjadi kuat bila ditambahkan anti giberelin (Lestari dan Purnamaningsih, 2005). Paclobutrazol dengan konsentrasi rendah dapat meningkatkan perakaran dan kualitas planlet. Paclobutrazol menyebabkan banyak perubahan morfologi, anatomi, fisiologi dan biokimia pada tanaman melalui reduksi reaksi hydroxilasi yang dibutuhkan untuk giberelin dan biosintesis sterol (Sitepu, 2007). Hazarika, 2003 (dalam Dinarti, 2012) menyatakan bahwa, paclobutrazol dapat memperkuat batang, akar dan menekan hilangnya air oleh daun melalui regulasi fungsi stomata dan kutikula serta meningkatkan sintesis klorofil per unit area pada daun. Pemberian paclobutrazol pada konsentrasi yang tepat akan menunjukkan daun lebih hijau, akar lebih kokoh, ruas batang memendek, dan kompak (Harjadi, 2009).

Tanaman yang diberi retardan menunjukkan daun yang lebih hijau, ruas lebih pendek, dan pengurangan kerusakan tanaman (Harjadi, 2009). Pemberian retardan dapat menghambat pertumbuhan vegetatif tanaman dan dapat memperpendek tinggi tanaman serta mengurangi tingkat kerebahan, sehingga tanaman tampak roset dan

kompak (Harjadi, 2009). Pemberian paclobutrazol 600 ppm menghasilkan ruas batang lebih pendek, luas daun semakin sempit dan meningkatkan jumlah tunas berbunga pada tanaman melati (*Jasminum sambac*) (Herlina dan Dwiatmini, 1996).

2.6.2 Manitol

Osmoregulator merupakan zat yang dapat meminimalkan pertumbuhan tanaman dengan cara mempengaruhi tekanan osmotik dalam media kultur. Akumulasi osmoregulator yang berlebihan akan menurunkan aktivitas enzim, konsentrasi protein dan mRNA. Manitol adalah salah satu jenis osmoregulator yang sering digunakan untuk konservasi *in vitro*.

Manitol merupakan gula alkohol polihidrik atau asiklik polyol, diturunkan dari manosa atau fruktosa, berperan penting dalam translokasi asimilat didalam floem. Penambahan manitol ke dalam media kultur akan menghambat pertumbuhan dan perkembangan tanaman yang dikulturkan tanpa mempengaruhi sifat genetiknya sehingga manitol dapat digunakan untuk konservasi *in vitro*. Hasil penelitian Acedo, 1994 (dalam Dewi, 2002) menunjukkan bahwa penambahan manitol 2% dalam media tumbuh ubi kayu lebih baik dibandingkan dengan konsentrasi yang lebih tinggi (4 - 6%). Konsentrasi manitol yang optimal untuk konservasi pisang adalah 2 – 4%. Pada konsentrasi yang lebih tinggi dari 4%, manitol dapat menyebabkan kematian pada kultur tanaman pisang (Bhat dan Chandel, 1993 dalam Dewi; 2002). Menurut (Lestari dan Supriyati, 2001) kombinasi Media $\frac{1}{2}$ MS dan manitol 4% merupakan komposisi media terbaik untuk menghambat pertumbuhan tunas temu putri, tunas yang dihasilkan lebih pendek. Sampai bulan ke-6 tunas yang ditanam masih berwarna hijau dan tidak menunjukkan adanya penampakan yang tidak normal.

2.6.3 Sukrosa

Di dalam kultur jaringan planlet tidak berfotosintesis sehingga bahan fotosintesis diberikan berupa sukrosa. Dengan demikian banyak bahan organik yang perlu ditambahkan ke dalam media untuk mendukung pertumbuhan yang optimal. Karbohidrat terutama gula merupakan komponen yang selalu ada dalam media tumbuh, kecuali dalam media untuk tujuan khusus.

Gula merupakan bagian terpenting dari medium. Sebagian besar kultur tanaman tidak dapat berfotosintesis secara efektif karena ketidakmampuan dalam

pengembangan sel dan jaringan, kekurangan klorofil, pertukaran CO₂ yang terbatas dalam jaringan dan cahaya yang lebih rendah dibandingkan dengan keadaan optimum (Robert dan Dennis, 2004 dalam Laisina; 2009), sehingga dalam media perlu ditambahkan gula sebagai penghasil energi. Gula bukan saja sebagai penghasil energi tetapi juga untuk pembentukan metabolit sekunder yang penting dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Selain itu menurut George and Sherington, 1984 (dalam Laisina, 2009) pengaruh nitrat dan ammonium tergantung konsentrasi sukrosa dan pengaruh sitokinin dalam pembelahan sel juga tergantung dari ketersediaan gula.

Sukrosa merupakan gula yang sering digunakan sebagai penghasil energi dalam media kultur jaringan. Konsentrasi sukrosa 20-60 g/l (disakarida yang dibuat dari glukosa dan fruktosa) adalah sebagian besar digunakan sebagai penghasil energi karena gula ini ditransport dan disintesis secara alami dalam tanaman (Robert dan Dennis, 2004 dalam Laisina; 2009). Selain sebagai penghasil energi, gula juga berfungsi sebagai penghasil tekanan osmotik media. Kontribusi nutrisi garam berkisar antara 20-50 % untuk potensi osmotikum media dan sukrosa memberi kontribusi sisanya. Kontribusi sukrosa untuk meningkatkan tekanan osmotik yaitu sukrosa dihidrolisis ke dalam glukosa dan fruktosa selama autoclave (Robert dan Dennis, 2004 dalam Laisina; 2009).

Dalam penyimpanan *in vitro* tapak dara, Kristina (2004) mengatakan bahwa penyimpanan terbaik dilakukan pada media $\frac{3}{4}$ MS + BA 0,1 mg/l + sukrosa 30 g/l dan $\frac{1}{2}$ MS + BA 0,1 mg/l + sukrosa 20 g/l dengan masa simpan selama 9 bulan serta memiliki prosentase tunas hidup sebesar 90%.

3. BAHAN DAN METODE

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember hingga bulan Mei 2018, di Laboratorium UPT kultur jaringan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan meliputi *Laminar Airflow Cabinet* (LAFC), *autoclave*, *stearer*, *shaker*, timbangan analitik, botol kultur, gelas ukur, cawan petri, pipet, pinset, skalpel, gunting, pH meter, *tissue*, plastik, karet gelang, *handsprayer*, sarung tangan, bunsen, korek api, rak kultur yang dilengkapi lampu, lemari pendingin, alat tulis, kamera digital.

Bahan tanam yang digunakan sebagai eksplan adalah umbi bawang dayak (Aksesi Tarakan dan Sleman). Bahan kimia yang digunakan meliputi media dasar MS, BAP, paclobutrazol, manitol, aquades, larutan deterjen, baycline atau klorox, dithane (fungisida), bakterisida, spiritus, dan alkohol 70%.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari 7 perlakuan sebagai berikut:

1. P1 = MS
2. P2 = $\frac{1}{2}$ MS + Sukrosa 6%
3. P3 = MS + Paclobutrazol 1 ppm
4. P4 = MS + Paclobutrazol 3 ppm
5. P5 = MS + Paclobutrazol 5 ppm
6. P6 = MS + Manitol 2%
7. P7 = MS + Manitol 4%

Setiap perlakuan diulang sebanyak 4 ulangan sehingga menjadi 28 satuan percobaan, setiap satuan percobaan terdiri dari sepuluh eksplan bawang dayak, sehingga eksplan yang digunakan sejumlah 280 eksplan. Denah pengacakan eksplan dapat dilihat pada Gambar 4.

M1U4 OOOOO	M7U3 OOOOO	M3U2 OOOOO	M3U1 OOOOO	M6U1 OOOOO	M4U3 OOOOO	M7U4 OOOOO
M6U4 OOOOO	M5U4 OOOOO	M4U1 OOOOO	M6U2 OOOOO	M3U4 OOOOO	M6U3 OOOOO	M1U3 OOOOO
M7U2 OOOOO	M2U3 OOOOO	M5U1 OOOOO	M4U4 OOOOO	M3U3 OOOOO	M5U2 OOOOO	M1U2 OOOOO
M2U1 OOOOO	M2U2 OOOOO	M7U1 OOOOO	M4U2 OOOOO	M2U4 OOOOO	M1U1 OOOOO	M5U3 OOOOO

Gambar 4. Denah pengacakan botol kultur

Keterangan:

M1 : MS

M2 : $\frac{1}{2}$ MS + Sukrosa 6%

M3 : MS + Paclobutrazol 1 ppm

M4 : MS + Paclobutrazol 3 ppm

M5 : MS + Paclobutrazol 5 ppm

M6 : MS + Manitol 2%

M7 : MS + Manitol 4%

U : Ulangan

O : Botol kultur

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Sterilisasi Alat, Media dan Lingkungan Kerja

Sterilisasi merupakan penentu dari keberhasilan kultur jaringan. Alat-alat yang akan dipakai dan botol kultur dicuci bersih kemudian disterilkan kedalam autoclave pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi selama 30 menit. Alat-alat yang perlu disterilkan yaitu pipet, pinset, scalpel, gunting, pengaduk, botol kultur dan cawan petri. Begitu juga dengan aquades dan media kultur dilakukan sterilisasi dengan menggunakan autoclave pada tekanan 15 psi dan suhu 121°C selama 20 menit.

Persiapan sebelum penanaman yaitu bagian dalam *laminar air flow cabinet* (LAFC) sebelum digunakan disinari terlebih dahulu dengan sinar UV selama 1 jam. Setelah itu permukaan bagian dalam disemprot dengan alkohol 70%

dan dibersihkan dengan tisu. Hal ini dilakukan sebelum dan setelah penanaman. Serta menyalakan blower sebelum dimulai pelaksanaan penelitian.

Semua alat dan bahan yang akan digunakan disemprot dengan alkohol 70% terlebih dahulu sebelum dimasukkan ke dalam LAFC, begitu juga tangan yang memegang alat. Pada saat penanaman, alat tanam yang telah diautoclave direndam dalam alkohol 70% dan dibakar di atas api bunsen beberapa saat untuk menjaga alat tetap steril.

3.4.2 Pembuatan Larutan Stok

Pembuatan larutan stok dilakukan dengan tujuan memudahkan dalam pencampuran komposisi media kultur, tentunya hal ini dilakukan sebelum penanaman bahan tanam. Langkah yang harus dilakukan yaitu dengan menimbang bahan-bahan larutan stok sesuai dengan media yang digunakan, media yang digunakan dalam penelitian ini adalah media MS, komposisi media MS terlampir pada lampiran 1.

3.4.3 Pembuatan Media

Media dasar yang digunakan untuk perlakuan adalah media MS. Media MS sebanyak 1 liter dibuat dengan menuangkan 100 ml larutan stok makro, 10 ml larutan stok mikro, FeEDTA, vitamin dan myoinositol ke tabung erlenmeyer ukuran satu liter, kemudian diencerkan dengan aquades sampai campuran bahan-bahan mencapai 1 liter. Selanjutnya ditambah 30g/l gula kedalam larutan. Agar larutan menjadi homogen, maka diperlu diaduk menggunakan stirrer. Langkah selanjutnya yaitu pengukuran keasaman atau pH larutan. pH larutan yang dikendaki dalam penelitian ini sebesar 5,8. Agar didapatkan nilai pH yang dikendaki larutan ditambahkan NaOH atau HCl, NaOH berguna untuk menaikkan pH sedangkan HCl sebaliknya menurunkan pH. Setelah pH dirasa sudah sesuai kemudian larutan dipanaskan, mengingat media yang digunakan adalah media padat maka diperlukan penambahan agar-agar, sebanyak 8 gram agar-agar ditambahkan kedalam larutan, tunggu sampai agar-agar terlarut dan larutan mendidih. Setelah mendidih, larutan dituangkan ke dalam botol kultur. Setiap botol diisi 30 ml larutan, botol segera ditutup menggunakan plastik tahan panas dan diikat dengan karet gelang. Pada setiap botol diberi label dengan keterangan tanggal pembuatan dan jenis media. Setelah semua botol tertutup, botol dengan

media kultur ini kemudian disterilkan dengan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C dan tekanan 17,5 Psi selama 30 menit. Setelah itu botol diangkat dan diletakkan pada rak kultur dalam ruang penyimpanan media yang sudah dilengkapi dengan pendingin ruangan.

3.4.4 Penanaman Eksplan

Sebelum melakukan penanaman eksplan terlebih dahulu dilakukan sterilisasi eksplan. Sterilisasi dikelompokkan menjadi dua tahap, yaitu:

1). Sterilisasi diluar LAFC. Eksplan yang dipilih berasal dari lahan budidaya dengan ukuran 3-4 cm, sehat, tidak terserang hama penyakit kemudian dikupas dan dicuci bersih dengan deterjen. Kemudian umbi direndam dalam larutan bakterisida dan fungisida selama 24 jam.

2). Sterilisasi didalam LAFC. Setelah dicuci dengan aquades kemudian umbi dimasukkan kedalam larutan kloroks 30% selama 20 menit. Selanjutnya lapisan terluar umbi dikupas hingga mencapai ukuran umbi yang siap untuk ditanam (10-15 mm). Kemudian umbi kembali direndam dalam larutan kloroks 10% selama 20 menit, untuk ketiga kalinya umbi direndam dalam larutan kloroks 5% selama 20 menit. Umbi dibilas dengan aquades steril dan siap untuk ditanam.

Selanjutnya eksplan ditanam di dalam media praperlakuan, dengan menggunakan media MS + 3 mg/l BAP, hal ini dimaksudkan untuk membentuk tanaman steril. Setiap botol kultur yang akan digunakan terlebih dahulu pada bagian mulut botol dibakar dengan bunsen untuk menghindari kontaminasi, pengisian eksplan dalam botol berjumlah satu buah. Setelah eksplan ditanam, mulut botol kembali dibakar dengan bunsen kemudian ditutup dengan plastik dan diikat rapat dengan karet gelang. Setelah selesai penanaman, botol kultur dipindahkan ke rak-rak kultur dalam ruang kultur. Setelah tanaman induk tumbuh dan menghasilkan tunas baru yang tingginya 4 cm dan mempunyai daun minimal 4 helai, maka tunas baru sudah dapat digunakan sebagai eksplan untuk perlakuan penelitian.

Planlet yang berasal dari media praperlakuan dikeluarkan, kemudian planlet dibersihkan dari sisa agar-agar yang menempel, setelah itu planlet direndam dalam larutan kloroks 20% selama 10 menit dan dibilas dengan aquades

steril. Selanjutnya planlet sudah siap untuk dipindah tanam kedalam media perlakuan.

3.4.5 Pemeliharaan

Pemeliharaan dilakukan dengan meletakkan botol kultur di ruang kultur yang bersuhu 18-24 °C dengan penyinaran lampu TL putih selama 16 jam per hari. Eksplan yang medianya terkontaminasi segera dipindahkan ke botol kultur yang baru, sebelum sumber kontaminan menyebar ke seluruh bagian media maupun eksplan. Langkah pemeliharaan yang lain adalah dengan cara melakukan sterilisasi ruangan dengan menyemprotkan alkohol 70% ke seluruh ruangan.

3.5 Pengamatan Penelitian

Pengamatan dilakukan selama 10 minggu, berikut ini adalah variabel yang diamati:

1. Waktu kemunculan tunas (hst), diamati setiap hari hingga tunas pertama muncul.
2. Waktu kemunculan akar (hst), diamati setiap hari hingga akar pertama muncul.
3. Jumlah tunas, dihitung berdasarkan jumlah tunas setiap planlet. Pengamatan dilakukan setiap tujuh hari sekali.
4. Jumlah daun, dihitung berdasarkan jumlah daun yang muncul pada setiap planlet. Pengamatan dilakukan setiap tujuh hari sekali.
5. Jumlah akar, dihitung berdasarkan jumlah akar yang tumbuh pada planlet. Pengamatan dilakukan setiap tujuh hari sekali.
6. Panjang planlet (cm), diukur dengan cara mengeluarkan planlet dari botol kemudian ditarik atau dipanjangkan kemudian diukur dari pangkal planlet hingga ujung planlet paling atas.
7. Panjang akar (cm), diukur pada akhir pengamatan. Pengukuran dimulai dari pangkal akar hingga ujung akar.
8. Warna daun, dilakukan dengan melihat secara langsung warna daun menggunakan RHS colour chart.

3.6 Analisis Data

Data pengamatan yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan uji F. Apabila hasil anova diperoleh perbedaan yang nyata maka dilanjutkan dengan uji perbandingan antar perlakuan dengan menggunakan BNT pada taraf 5 %.

Tabel 1. Analisis ragam

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F tabel
Perlakuan	p-1	JKP	JKP/db	KTP/KTG	
Galat	p (r-1)	JKG	JKG/db		
Total	p r -1	JKT			

Perhitungan:

$$FK = (\text{Total})^2 / p r \quad JKP = (\sum_{i=1}^n TP^2) / r - FK$$

$$JKT = (\sum_{i=1}^n T^2) - FK \quad JKG = JKT - JKP$$

$$\text{Koefisien Keragaman (KK)} = \sqrt{\frac{KTg}{y}} \times 100\%$$

p = jumlah perlakuan \bar{y} = rata-rata keseluruhan nilai perlakuan

r = jumlah ulangan TP = nilai total per perlakuan

T = nilai semua kombinasi perlakuan

Uji lanjut BNT taraf 5% :

$$BNT_{0,05} = t_{\alpha} \times \sqrt{((2*KT_g)/r)}$$

Dimana t_{α} = t tabel untuk db galat pada taraf 5%

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

4.1.1 Waktu Kemunculan Akar dan Tunas

Hasil analisis ragam (Lampiran 2) menunjukkan adanya pengaruh yang nyata perlakuan komposisi media terhadap waktu kemunculan akar pertama planlet bawang dayak. Pengaruh yang nyata juga ditunjukkan oleh perlakuan komposisi media terhadap tunas pertama planlet bawang dayak. Rerata waktu kemunculan akar dan tunas pada planlet bawang dayak tertera pada Tabel 2.

Tabel 2. Waktu Kemunculan Tunas dan Akar pada Planlet Bawang Dayak

Perlakuan	Waktu Kemunculan (HST)	
	Akar	Tunas
P1 (MS)	9.75 a	22.75 c
P2 ($\frac{1}{2}$ MS + Sukrosa 6%)	8.75 a	24.75 d
P3 (MS + Paclobutrazol 1 ppm)	13.00 b	21.75 c
P4 (MS + Paclobutrazol 3 ppm)	16.00 c	18.75 b
P5 (MS + Paclobutrazol 5 ppm)	7.25 a	13.25 a
P6 (MS + Manitol 2%)	13.75 bc	29.75 e
P7 (MS + Manitol 4%)	13.75 bc	28.00 e
BNT 5%	2.60	1.83
KK (%)	15.06	5.48

Keterangan: Angka didampingi huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT pada taraf 5%; HST = Hari Setelah Tanam.

Berdasarkan hasil penelitian, perlakuan P4 (MS + Paclobutrazol 3 ppm) menunjukkan waktu kemunculan akar yang lebih lama dibandingkan dengan perlakuan P1 (MS), P2 ($\frac{1}{2}$ MS + Sukrosa 6%), P3 (MS + Paclobutrazol 1 ppm) dan P5 (MS + Paclobutrazol 5 ppm), serta tidak berbeda nyata dengan perlakuan P6 (MS + Manitol 2%) dan P7 (MS + Manitol 4%). Selanjutnya, waktu kemunculan tunas pada planlet bawang dayak perlakuan P6 (MS + Manitol 2%) dan P7 (MS + Manitol 4%) lebih lama jika dibandingkan dengan perlakuan P1 (MS), P2 ($\frac{1}{2}$ MS + Sukrosa 6%), P3 (MS + Paclobutrazol 1 ppm), P4 (MS + Paclobutrazol 3 ppm) dan P5 (MS + Paclobutrazol 5 ppm).

Pada pengamatan munculnya akar dimana perlakuan MS yang ditambah dengan Paclobutrazol 3 ppm (P4) menghambat munculnya akar lebih lama dibandingkan dengan perlakuan MS ditambah Paclobutrazol 1 ppm (P3) dan 5 ppm (P5). Namun hasil yang berbeda ditunjukkan oleh perlakuan MS yang dicampurkan dengan Paclobutrazol 1 ppm (P3) mempunyai respon kemunculan

tunas lebih lama dibandingkan dengan perlakuan MS yang ditambah dengan Paclobutrazol 3 ppm (P4) dan ditambah Paclobutrazol 5 ppm (P5). Selanjutnya, perlakuan MS yang ditambah dengan Manitol 2% (P6) dan Manitol 4% (P7) menunjukkan respon yang tidak berbeda nyata baik pada pengamatan waktu munculnya tunas maupun waktu munculnya akar, walaupun pada pengamatan munculnya tunas perlakuan MS yang ditambah dengan Manitol 2% (P6) menunjukkan respon yang lebih lama dibandingkan perlakuan MS yang ditambah Manitol 4% (P7).

Perlakuan MS yang ditambahkan dengan Manitol baik dengan konsentrasi 2% (P6) maupun 4% (P7) mampu menghambat munculnya akar dan tunas lebih lama jika dibandingkan dengan kombinasi media yang lain. Perlakuan P5 (MS + Paclobutrazol 5 ppm) justru mempunyai respon kemunculan akar dan tunas yang paling cepat jika dibandingkan dengan perlakuan kontrol yaitu dengan media MS tanpa tambahan zat lain (P1) dan perlakuan $\frac{1}{2}$ MS + Sukrosa 6% (P2).

4.1.2 Jumlah Tunas

Hasil analisis ragam (Lampiran 2) menunjukkan adanya pengaruh yang nyata perlakuan komposisi media terhadap jumlah tunas pada berbagai waktu pengamatan. Rerata jumlah tunas planlet bawang dayak tertera pada Tabel 3. Pada hasil penelitian dapat dilihat bahwa perlakuan P6 (MS + Manitol 2%) dan P7 (MS + Manitol 4%) mempunyai jumlah tunas yang lebih sedikit dibandingkan P1, P2, P3, P4 dan P5 pada seluruh waktu pengamatan.

Campuran media MS + Manitol 2% (P6) dan MS + Manitol 4% (P7) memberikan respon yang tidak berbeda nyata pada seluruh waktu pengamatan terhadap jumlah tunas pada planlet bawang dayak. Hal tersebut berbeda dengan perlakuan campuran media MS dengan Paclobutrazol. Dari keseluruhan waktu pengamatan, perlakuan MS + Paclobutrazol 5 ppm (P5) menunjukkan jumlah tunas yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan MS + Paclobutrazol 1 ppm (P3) atau perlakuan MS + Paclobutrazol 3 ppm (P4). Selanjutnya perlakuan P3 (MS + Paclobutrazol 1 ppm) menunjukkan jumlah tunas lebih rendah dibandingkan perlakuan MS dicampur Paclobutrazol dengan konsentrasi yang lain, hanya pada waktu pengamatan 28 dan 35 HST saja perlakuan P3 (MS +

Paclobutrazol 1 ppm) dan P4 (MS + Paclobutrazol 3 ppm) menunjukkan respon yang tidak berbeda nyata. Perlakuan P1 (MS) menunjukkan respon yang tidak berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan P2 ($\frac{1}{2}$ MS + Sukrosa 6%).

Perlakuan campuran MS dengan Manitol (P6 dan P7) menunjukkan laju pertumbuhan jumlah tunas lebih sedikit dan relatif stabil mulai 21 hingga 70 HST, perlakuan MS (P1) dan campuran MS dengan Sukrosa (P2) mempunyai laju pertumbuhan jumlah tunas sedang dan perlakuan campuran MS dengan Paclobutrazol (P3, P4 dan P5) mempunyai laju pertumbuhan jumlah tunas paling tinggi. Hal tersebut berarti perlakuan MS yang dicampur dengan Manitol dengan berbagai konsentrasi mampu menghambat tumbuhnya tunas pada planlet bawang dayak dibandingkan dengan perlakuan yang lain.

4.1.3 Jumlah Daun

Hasil analisis ragam (Lampiran 2) menunjukkan adanya pengaruh yang nyata perlakuan komposisi media terhadap jumlah daun pada berbagai waktu pengamatan. Rerata jumlah daun planlet bawang dayak tertera pada Tabel 4. Pada hasil penelitian dapat dilihat bahwa perlakuan P6 (MS + Manitol 2%) dan P7 (MS + Manitol 4%) mempunyai jumlah daun yang lebih sedikit dibandingkan P1, P2, P3, P4 dan P5 pada waktu pengamatan 21, 28, 35, 42, 49 dan 70 HST. Pada waktu pengamatan 56 dan 63 HST, perlakuan P7 (MS + Manitol 4%) mempunyai jumlah daun yang lebih sedikit dibanding perlakuan P1, P2, P3, P4, P5 dan P6.

Campuran media MS + Manitol 2% (P6) dan MS + Manitol 4% (P7) memberikan respon yang tidak berbeda nyata pada seluruh waktu pengamatan terhadap jumlah daun pada planlet bawang dayak kecuali pada waktu pengamatan 56 dan 63 HST, dimana jumlah daun pada perlakuan P6 (MS + Manitol 2%) lebih tinggi daripada P7 (MS + Manitol 4%). Hampir pada seluruh waktu pengamatan, perlakuan P5 (MS + Paclobutrazol 5 ppm) menunjukkan jumlah daun paling tinggi dibandingkan perlakuan P3 (MS + Paclobutrazol 1 ppm) dan P4 (MS + Paclobutrazol 3 ppm), diikuti oleh perlakuan P4 kemudian P3 paling rendah. Hanya pada pengamatan umur 21 HST saja jumlah daun pada perlakuan P5 dan P3 tidak berbeda nyata. Selanjutnya, perlakuan kontrol atau MS (P1) tidak berbeda nyata dengan perlakuan P2 ($\frac{1}{2}$ MS + Sukrosa 6%) pada seluruh waktu

pengamatan, kecuali pada waktu pengamatan 35 HST, perlakuan P1 menunjukkan jumlah daun lebih tinggi dibandingkan perlakuan P2.

Perlakuan campuran MS dengan Manitol (P6 dan P7) menunjukkan laju pertambahan jumlah daun lebih rendah, perlakuan MS (P1) dan campuran MS dengan Sukrosa (P2) mempunyai laju pertumbuhan jumlah daun sedang dan perlakuan campuran MS dengan Paclobutrazol (P3, P4 dan P5) mempunyai laju pertumbuhan jumlah daun paling tinggi hingga 70 HST. Hal tersebut berarti perlakuan MS yang dicampur dengan Manitol dengan berbagai konsentrasi mampu menghambat tumbuhnya daun pada planlet bawang dayak lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan yang lain.

4.1.4 Jumlah Akar

Hasil analisis ragam (Lampiran 2) menunjukkan adanya pengaruh yang nyata perlakuan komposisi media terhadap jumlah akar pada berbagai waktu pengamatan. Rerata jumlah akar planlet bawang dayak tertera pada Tabel 5. Pada hasil penelitian dapat dilihat bahwa perlakuan P6 (MS + Manitol 2%) mempunyai jumlah akar yang lebih sedikit dibandingkan perlakuan P1, P2, P3 dan P5 pada waktu pengamatan 21 HST; lebih sedikit dibandingkan perlakuan P1, P2, P3, P4 dan P5 pada waktu pengamatan 28 dan 49 HST serta lebih sedikit dibandingkan perlakuan P1, P3, P4 dan P5 pada waktu pengamatan 42 HST. Perlakuan P6 (MS + Manitol 2%) dan P7 (MS + Manitol 4%) mempunyai jumlah akar lebih sedikit dibandingkan dengan perlakuan P3, P4 dan P5 pada waktu pengamatan 35 HST serta lebih sedikit dibandingkan perlakuan P1, P2, P3, P4 dan P5 pada waktu pengamatan 56, 63 dan 70 HST.

Campuran media MS + Manitol 2% (P6) dan MS + Manitol 4% (P7) memberikan respon yang tidak berbeda nyata pada seluruh waktu pengamatan terhadap jumlah akar pada planlet bawang dayak. Hal yang serupa terdapat pada perlakuan MS (P1) dan $\frac{1}{2}$ MS + Sukrosa 6% (P2) yang juga memberikan respon tidak berbeda nyata pada jumlah akar planlet bawang dayak pada seluruh waktu pengamatan. Perlakuan P5 (MS + Paclobutrazol 5 ppm) menunjukkan jumlah akar lebih tinggi dibandingkan perlakuan P4 (MS + Paclobutrazol 3 ppm) pada waktu pengamatan 21, 28 dan 70 HST, sedangkan perlakuan P3, P4 dan P5 tidak

menunjukkan respon yang berbeda nyata terhadap jumlah akar planlet bawang dayak pada waktu pengamatan 35, 42, 49, 56 dan 63 HST.

Perlakuan campuran MS dengan Manitol 2% (P6) menunjukkan laju pertumbuhan jumlah akar lebih sedikit, sedangkan perlakuan campuran MS tanpa tambahan zat lain (P1), MS yang ditambahkan dengan Sukrosa (P2) dan MS yang ditambahkan dengan Paclobutrazol (P3, P4 dan P5) hampir tidak menunjukkan respon yang berbeda nyata dan laju pertumbuhan jumlah akarnya sama-sama tinggi. Hal tersebut berarti perlakuan MS yang dicampur dengan Manitol 2% (P6) mampu menghambat tumbuhnya akar pada planlet bawang dayak dibandingkan dengan perlakuan yang lain.



Tabel 3. Jumlah Tunas pada Planlet Bawang Dayak

Perlakuan	Jumlah Tunas pada (HST)							
	21	28	35	42	49	56	63	70
P1 (MS)	0.58 b	1.23 b	1.68 b	2.23 b	3.60 b	4.90 b	6.63 b	9.53 b
P2 (½ MS + Sukrosa 6%)	0.50 b	1.18 b	1.60 b	2.28 b	3.80 b	4.75 b	6.55 b	9.38 b
P3 (MS + Paclobutrazol 1 ppm)	0.93 c	1.73 c	2.23 c	3.00 c	4.65 c	5.90 c	7.68 c	11.23 c
P4 (MS + Paclobutrazol 3 ppm)	1.10 d	2.10 c	2.68 c	3.80 d	5.60 d	7.30 d	9.65 d	12.80 d
P5 (MS + Paclobutrazol 5 ppm)	1.93 e	2.73 d	3.70 d	5.30 e	8.10 e	10.30 e	12.73 e	15.73 e
P6 (MS + Manitol 2%)	0.13 a	0.15 a	0.95 a	1.08 a	1.38 a	1.58 a	1.78 a	1.93 a
P7 (MS + Manitol 4%)	0.05 a	0.13 a	0.80 a	1.00 a	1.08 a	1.35 a	1.60 a	1.95 a
BNT 5%	0.12	0.41	0.52	0.51	0.49	0.53	0.50	0.47
KK (%)	10.99	20.99	18.12	12.94	8.22	7.04	5.07	3.58

Keterangan: Angka didampingi huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT pada taraf 5%; HST = Hari Setelah Tanam.

Tabel 4. Jumlah Daun pada Planlet Bawang Dayak

Perlakuan	Jumlah Daun (helai) pada (HST)							
	21	28	35	42	49	56	63	70
P1 (MS)	3.50 d	4.63 e	5.43 e	7.38 bc	9.38 b	12.35 c	15.13 c	19.35 b
P2 (½ MS + Sukrosa 6%)	3.58 d	4.43 e	5.10 d	7.23 b	9.35 b	12.50 c	14.95 c	19.23 b
P3 (MS + Paclobutrazol 1 ppm)	2.13 c	2.93 b	3.53 b	7.58 c	11.10 c	14.80 d	20.95 d	27.93 c
P4 (MS + Paclobutrazol 3 ppm)	1.73 b	3.23 c	4.48 c	8.50 d	13.53 d	18.38 e	25.68 e	36.65 d
P5 (MS + Paclobutrazol 5 ppm)	2.30 c	3.55 d	6.23 f	12.35 e	20.40 e	28.73 f	38.03 f	51.28 e
P6 (MS + Manitol 2%)	1.23 a	1.38 a	1.83 a	2.03 a	2.40 a	2.68 b	3.00 b	3.35 a
P7 (MS + Manitol 4%)	1.05 a	1.23 a	1.60 a	1.90 a	2.10 a	2.33 a	2.65 a	2.98 a
BNT 5%	0.37	0.26	0.27	0.24	0.56	0.32	0.29	0.47
KK (%)	11.24	5.79	4.53	2.48	3.93	1.65	1.14	1.40

Keterangan: Angka didampingi huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT pada taraf 5%; HST = Hari Setelah Tanam.

Tabel 5. Jumlah Akar pada Planlet Bawang Dayak

Perlakuan	Jumlah Akar pada (HST)							
	21	28	35	42	49	56	63	70
P1 (MS)	2.38 bcd	3.25 bc	4.75 abc	6.13 bc	8.08 c	10.48 b	11.70 b	13.35 b
P2 (½ MS + Sukrosa 6%)	2.45 cd	3.28 bc	4.25 ab	5.38 abc	7.30 bc	9.10 b	11.38 b	13.13 b
P3 (MS + Paclobutrazol 1 ppm)	2.45 cd	4.08 cd	5.90 bc	7.88 cd	10.30 cd	12.00 bc	13.80 bc	16.45 bc
P4 (MS + Paclobutrazol 3 ppm)	1.95 abc	3.25 bc	5.50 bc	7.55 cd	9.88 cd	11.85 bc	13.80 bc	15.63 b
P5 (MS + Paclobutrazol 5 ppm)	2.80 d	4.60 d	6.83 c	9.60 d	12.10 d	14.40 c	17.00 c	19.73 c
P6 (MS + Manitol 2%)	1.60 a	2.08 a	2.65 a	3.18 a	4.00 a	4.60 a	5.23 a	6.03 a
P7 (MS + Manitol 4%)	1.70 ab	2.53 ab	2.95 a	3.68 ab	4.33 ab	5.15 a	5.68 a	6.30 a
BNT 5%	0.70	1.11	2.15	2.80	3.24	3.66	3.70	3.71
KK (%)	21.60	22.99	31.22	30.69	27.55	25.80	22.40	19.51

Keterangan: Angka didampingi huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT pada taraf 5%; HST = Hari Setelah Tanam.

4.1.5 Panjang Planlet dan Panjang Akar

Hasil analisis ragam (Lampiran 2) menunjukkan adanya pengaruh yang nyata perlakuan komposisi media terhadap panjang planlet dan panjang akar pada berbagai waktu pengamatan. Rerata panjang planlet dan panjang akar planlet bawang dayak tertera pada Tabel 6.

Tabel 6. Panjang Planlet dan Panjang Akar Planlet Bawang Dayak pada Akhir Pengamatan

Perlakuan	Panjang Planlet (cm)	Panjang Akar (cm)
P1 (MS)	12.05 f	11.14 e
P2 ($\frac{1}{2}$ MS + Sukrosa 6%)	11.43 e	11.27 e
P3 (MS + Paclobutrazol 1 ppm)	7.30 c	9.98 d
P4 (MS + Paclobutrazol 3 ppm)	6.20 b	2.62 c
P5 (MS + Paclobutrazol 5 ppm)	3.99 a	1.42 b
P6 (MS + Manitol 2%)	8.49 d	0.71 ab
P7 (MS + Manitol 4%)	3.68 a	0.50 a
BNT 5%	0.35	0.76
KK (%)	3.14	9.65

Keterangan: Angka didampingi huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT pada taraf 5%; HST = Hari Setelah Tanam.

Berdasarkan hasil penelitian, perlakuan P5 (MS + Paclobutrazol 3 ppm) dan P7 (MS + Manitol 4%) menunjukkan panjang planlet yang lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan P1 (MS), P2 ($\frac{1}{2}$ MS + Sukrosa 6%), P3 (MS + Paclobutrazol 1 ppm), P4 (MS + Paclobutrazol 3 ppm) dan P6 (MS + Manitol 2%). Selanjutnya, panjang akar pada planlet bawang dayak perlakuan P7 (MS + Manitol 4%) mempunyai panjang akar lebih rendah jika dibandingkan dengan perlakuan P1 (MS), P2 ($\frac{1}{2}$ MS + Sukrosa 6%), P3 (MS + Paclobutrazol 1 ppm), P4 (MS + Paclobutrazol 3 ppm) dan P5 (MS + Paclobutrazol 5 ppm).

Pada pengamatan panjang planlet, perlakuan $\frac{1}{2}$ MS + Sukrosa 6% (P2) dapat menghambat pertumbuhan panjang planlet lebih baik dibandingkan dengan perlakuan MS (P1), namun perlakuan P1 dan P2 menunjukkan respon yang tidak berbeda nyata pada pengamatan panjang akar. Respon yang sama ditunjukkan oleh perlakuan MS yang dicampurkan dengan Paclobutrazol dengan berbagai konsentrasi pada pengamatan panjang planlet maupun panjang akar, dimana perlakuan MS + Paclobutrazol 5 ppm (P5) mampu menghambat pertumbuhan panjang planlet dan panjang akar lebih baik dibandingkan dengan perlakuan MS +

Paclobutrazol 1 ppm (P3) dan MS + Paclobutrazol 3 ppm (P4). Selanjutnya, perlakuan MS + Manitol 4% (P7) mampu menghambat pertumbuhan panjang planlet bawang dayak lebih baik dibandingkan perlakuan MS + Manitol 2% (P6), namun perlakuan P6 dan P7 menunjukkan respon yang tidak berbeda nyata pada pengamatan panjang akar.

Secara umum, perlakuan campuran MS dengan Manitol 4% (P7) menunjukkan panjang ekplan dan panjang akar yang lebih rendah. Hal tersebut dapat diartikan bahwa perlakuan MS yang dicampur dengan Manitol 4% (P7) mampu menghambat tumbuhnya daun dan akar pada planlet bawang dayak dibandingkan dengan perlakuan yang lain.

4.1.6 Warna Daun

Hasil pengamatan warna daun pada planlet bawang dayak dapat dilihat pada Tabel 7. Dari hasil pengamatan terdapat beberapa warna yang sama namun dengan kode warna yang berbeda. Kode dengan angka yang lebih kecil menunjukkan warna daun yang lebih tua.

Tabel 7. Pengamatan Warna Daun pada Planlet Bawang Dayak pada Seluruh Ulangan

Perlakuan	Tanaman ke-			
	1	2	3	4
P1 (MS)	142A	142A	142A	142A
P2 (½ MS + Sukrosa 6%)	142A	142A	142A	142C
P3 (MS + Paclobutrazol 1 ppm)	142B	140B	140B	140A
P4 (MS + Paclobutrazol 3 ppm)	140A	140A	140A	140A
P5 (MS + Paclobutrazol 5 ppm)	141B	141B	141B	140A
P6 (MS + Manitol 2%)	141D	142B	141C	141D
P7 (MS + Manitol 4%)	142B	142B	142B	141D

Keterangan: 140A: *Vivid Yellowish Green*, 140B: *Brilliant Yellowish Green*, 141B: *Deep Yellowish Green*, 141C: *Strong Yellowish Green*, 141D: *Strong Yellowish Green*, 142A: *Strong Yellowish Green*, 142B: *Brilliant Yellowish Green*, 142C: *Light Yellowish Green*.

Dari hasil penelitian, didapatkan data bahwa pada perlakuan MS + Paclobutrazol pada berbagai konsentrasi (P3, P4 dan P5) menunjukkan warna daun lebih gelap dibandingkan perlakuan lain. Perlakuan MS + Paclobutrazol 5 ppm menunjukkan warna daun paling gelap dibandingkan perlakuan MS + Paclobutrazol dengan konsentrasi yang lebih rendah. Sedangkan warna daun yang lebih muda adalah pada perlakuan ½ MS + Sukrosa 6% (P2).

4.2 Pembahasan

4.2.1 Pengaruh Perlakuan terhadap Waktu Kemunculan Akar dan Tunas Bawang Dayak

Kultur jaringan merupakan suatu metode mengisolasi bagian tanaman seperti protoplasma, sel, sekelompok sel, jaringan dan organ, kemudian menumbuhkannya dalam kondisi aseptik, sehingga bagian-bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman lengkap (Gunawan, 1992). Kultur jaringan kemudian disebut teknik *in vitro* karena bagian-bagian tanaman yang dikulturkan diletakkan dalam tabung gelas. Keberhasilan dari teknik *in vitro* bergantung pada genotip, eksplan, media kultur serta lingkungan tumbuh (George dan Sherrington, 1984).

George dan Sherrington (1984) menyatakan bahwa pertumbuhan dan perkembangan eksplan dipengaruhi oleh interaksi dan keseimbangan ZPT eksogen dan endogen (hormon). Hormon yang terkandung pada setiap tanaman berbeda-beda, tergantung pada genotip. Hormon yang memengaruhi pertumbuhan akar adalah auksin, sedangkan yang memengaruhi pertumbuhan tunas adalah sitokinin. Gunawan (1987 dalam Intan, 2008) menjelaskan apabila konsentrasi auksin lebih tinggi daripada sitokinin, maka kalus akan tumbuh, namun jika konsentrasi sitokinin lebih tinggi maka tunas akan tumbuh. Selanjutnya, Campbell (2003) menyatakan bahwa jika sitokinin lebih banyak dari auksin maka akan terbentuk tunas, sebaliknya jika auksin lebih banyak dari sitokinin maka akan terbentuk akar. Didukung juga oleh pernyataan Akbar (2017) bahwa hormon yang biasa digunakan dalam penelitian kultur jaringan adalah kelompok sitokinin dan auksin dan pembentukan tunas lebih dipengaruhi oleh hormon sitokinin.

Pada penelitian ini, kultur *in vitro* digunakan dalam konservasi tanaman bawang dayak yang merupakan tanaman langka yang dimanfaatkan sebagai obat. Strategi konservasi *in vitro* dapat diterapkan untuk penyimpanan plasma nutfah dalam jangka pendek, menengah dan panjang dalam kondisi aseptik di laboratorium (Keller *et al.*, 2006). Metode yang digunakan adalah penyimpanan dengan pertumbuhan minimal, dimana eksplan dikondisikan tumbuh dalam keadaan suboptimal yang nantinya pertumbuhan berlangsung lambat (Engelman, 1991 dalam Dewi, 2002). Cara yang dilakukan adalah dengan menambahkan

regulator osmotik dan zat penghambat tumbuh pada media yang digunakan untuk menumbuhkan bawang dayak. Regulator osmotik yang digunakan dalam penelitian adalah sukrosa dan manitol, sedangkan zat penghambat tumbuh yang digunakan adalah paclobutrazol. Hal tersebut untuk memperpanjang interval waktu subkultur, memelihara agar viabilitas tunas yang disimpan tidak menurun dan mencegah terjadinya variasi somaklonal (Lestari dan Mariska, 2001 dalam Noorrohmah *et al.*, 2015).

Setiap eksplan yang tumbuh menunjukkan respon munculnya akar dan tunas yang berbeda-beda. Perbedaan respon tersebut adalah pengaruh dari penggunaan komposisi media dengan campuran zat yang berbeda. Kemunculan akar pada eksplan yang ditumbuhkan pada media MS yang dicampur dengan manitol lebih lama dibandingkan pada eksplan yang ditumbuhkan pada media MS yang dicampurkan dengan paclobutrazol, sukrosa dan tanpa campuran zat lain (kontrol). Respon yang sama terlihat pada waktu kemunculan tunas dimana eksplan bawang dayak yang ditumbuhkan pada media campuran antara MS dengan manitol mempunyai waktu kemunculan tunas lebih lama dibandingkan dengan eksplan yang tumbuh pada media MS dengan atau tanpa campuran zat yang lain.

Kelambatan munculnya akar dan tunas pada eksplan bawang dayak tersebut dikarenakan oleh terhambatnya fungsi hormon auksin dan sitokinin yang disebabkan oleh tambahan regulator osmotik dan zat penghambat tumbuh pada media tumbuh. Diungkapkan oleh Keller *et al.* (2006) bahwa laju metabolisme tanaman *in vitro* dapat dihambat dengan dua cara, pertama dengan memodifikasi komponen media melalui penggunaan regulator osmotik (osmoregulator) dan zat penghambat tumbuh (retardan), penurunan konsentrasi garam-garam makro, peningkatan atau penurunan konsentrasi sukrosa, dan kedua dengan memodifikasi lingkungan tumbuh melalui penyimpanan pada suhu rendah serta pengurangan intensitas cahaya.

Manitol merupakan gula alkohol polihidrik atau asiklik polyol, diturunkan dari manosa atau fruktosa, berperan penting dalam translokasi asimilat di dalam floem. Menurut Deguchi *et al.* (2004) manitol merupakan karbohidrat terhidrogenasi yang mempunyai peranan dalam mengendalikan tekanan osmotik

yang akan mempengaruhi translokasi karbohidrat. Osmotikum secara perlahan meningkatkan tekanan osmotik medium dan mengurangi ketersediaan air bagi biakan yang sedang tumbuh. Semakin tinggi konsentrasi manitol, tentu akan semakin terbatas pasokan air dan nutrisi ke biakan dan hal ini menyebabkan viabilitas biakan terus menurun. Akumulasi osmoregulator yang berlebihan juga akan menurunkan aktivitas enzim (Dewi, 2014). Hal tersebut begitu sejalan dengan hasil penelitian ini karena media MS yang ditambahkan manitol dengan konsentrasi yang lebih rendah (2%) nyatanya menghambat waktu muncul akar dan tunas lebih lama, meskipun tidak berbeda nyata.

Selain manitol, terdapat zat lain yang ditambahkan pada media MS yaitu zat penghambat tumbuh paclobutrazol. Paclobutrazol adalah senyawa triazole yang sering digunakan sebagai retardan penghambat pertumbuhan vegetatif pada tanaman angiosperma (Rademacher, 2000). Paclobutrazol merupakan retardan yang bersifat menurunkan aktivitas metabolisme jaringan dan dapat menghambat proses pertumbuhan vegetatif (Purnomo dan Prahadini, 1991) dan menghambat biosintesis giberalin yang berfungsi dalam proses pemanjangan sel dan jaringan tanaman (Sankhala *et al.*, 1992 dalam Yelnitis dan Bermawie, 2001). Prinsip kerja paclobutrazol di dalam tanaman menghambat biosintesis giberellin dengan cara menekan kaurene sehingga tidak terjadi pembentukan kaurenoat. Hal ini mengakibatkan penurunan laju pembelahan sel secara morfologis dimana terlihat adanya pengurangan asimilat ke pertumbuhan reproduktif untuk pembungaan. Paclobutrazol merupakan retardan yang dapat menghambat biosintesis giberelin dalam tanaman dan menekan pengaruh asam absisik, etilen dan IAA dalam tanaman (Pratama, 2017).

Paclobutrazol dalam penelitian mempunyai respon yang berbeda pada setiap konsentrasi terhadap kemunculan akar dan tunas. Media tumbuh MS dengan campuran paclobutrazol dengan konsentrasi 5 ppm tidak menghambat kemunculan tunas dengan lebih baik dibandingkan kontrol. Pada perlakuan tersebut, kemunculan tunas paling cepat daripada perlakuan yang lain. Hal yang sama juga terlihat dimana MS yang ditambahkan dengan paclobutrazol 5 ppm menunjukkan waktu tercepat pada kemunculan akar. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Pratama (2017) bahwa paclobutrazol dapat meningkatkan pertumbuhan

akar tanaman pada situasi tertentu. Menurut Menhennet (1979 *dalam* Pratama 2017), meskipun paclobutrazol merupakan salah satu retardan yang bekerja antagonis dengan hormon giberelin, namun respon retardan pada tanaman sangat bervariasi. Hal itu disebabkan oleh kemampuan yang berbeda antar eksplan yang digunakan sebagai bahan tanam pada spesies untuk mengabsorpsi dan translokasi senyawa kimia, adanya mekanisme penonaktifan dalam beberapa spesies serta perbedaan pola interaksi retardan dalam tanaman. Namun media MS yang ditambahkan dengan paclobutrazol 3 ppm dapat menghambat waktu munculnya akar lebih lama daripada perlakuan lain. Menurut Chaney (2004), penghambatan pertumbuhan yang diakibatkan oleh aplikasi paclobutrazol muncul karena komponen kimia yang terkandung dalam paclobutrazol menghalangi untuk produksi giberelin pada jalur terpenoid dengan cara menghambat enzim yang mengkatalisasi proses reaksi metabolis. Salah satu fungsi utama giberelin dihambat, pembelahan sel tetap terjadi namun sel-sel baru tidak mengalami pemanjangan.

Sukrosa adalah sumber karbon yang menyokong pertumbuhan sel dalam kultur jaringan (Gamborg dan Philips, 1995). Sukrosa sebagai penghasil energi, yang juga berfungsi sebagai penghasil tekanan osmotik media. Sukrosa ditambahkan dalam media MS yang diencerkan. Pertumbuhan minimal dapat menggunakan media dasar yang diencerkan antara $\frac{1}{2}$ - $\frac{1}{4}$ dari formulasi dasar (Bapat dan Rao, 1988). Dengan pengenceran media menjadi $\frac{1}{4}$ atau $\frac{1}{2}$ -nya menyebabkan berkurangnya unsur makro terutama NH_4^+ dan NO_3^- sehingga N sebagai unsur yang penting untuk pertumbuhan menjadi berkurang. Pada penelitian, pengenceran media MS yang ditambahkan sukrosa dapat menghambat kemunculan tunas. Pemberian sukrosa 210 dan 240 g/l menyebabkan sel mengalami tingkat dehidrasi yang sangat tinggi, sehingga tidak mempunyai kemampuan untuk beregenerasi bahkan jaringan menunjukkan warna coklat (Sunarlim *et al.*, 2001). Hasil yang berbeda ditunjukkan oleh respon kemunculan akar akibat perlakuan pengenceran media MS dan penambahan sukrosa. Perlakuan menunjukkan tidak adanya hambatan munculnya akar jika dibandingkan dengan kontrol. Hal ini sesuai dengan penelitian Sabda dan Dewi (2016) dimana pengurangan konsentrasi garam-garam mineral pada pengenceran

media dan sukrosa yang digunakan dalam penelitian belum cukup optimal untuk menghambat pertumbuhan biakan belitung.

4.2.2 Pengaruh Perlakuan terhadap Pertumbuhan Vegetatif Planlet Bawang Dayak

Pertumbuhan vegetatif pada planlet bawang dayak pada penelitian ini meliputi pertumbuhan tunas, daun dan akar. Karakter pertumbuhan yang meliputi jumlah tunas, jumlah daun dan jumlah akar diamati pada masa penyimpanan setiap tujuh hari sekali, dimulai 21 hingga 70 HST, sedangkan karakter panjang planlet dan panjang akar diamati setelah 70 HST. Sama halnya dengan kemunculan akar dan tunas, bahwa pertumbuhan tunas, daun dan akar pada planlet juga dipengaruhi oleh hormon auksin dan sitokinin.

Pada hasil penelitian, eksplan yang ditumbuhkan pada media MS yang dicampur dengan manitol pertumbuhan tunasnya terhambat dan relatif stabil laju pertumbuhannya jika dibandingkan dengan perlakuan kontrol maupun media yang ditambahkan sukrosa dan paclobutrazol. Penambahan manitol pada media tumbuh dengan konsentrasi yang lebih tinggi yaitu 4% mampu menghambat pertumbuhan jumlah tunas, jumlah daun, panjang planlet dan panjang akar. Sedangkan pada karakter jumlah akar, konsentrasi manitol terbaik untuk menghambat pertumbuhan adalah 2%.

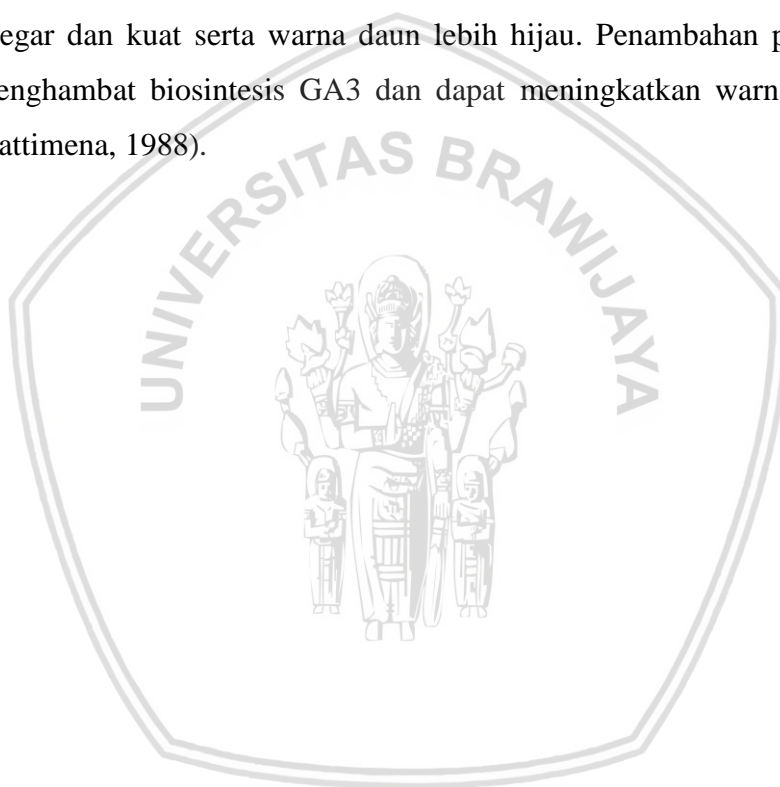
Penambahan manitol pada media tanam menyebabkan peningkatan tekanan osmotik media yang berakibat serapan mineral dan air oleh biakan terhambat. Hal ini menurunkan laju pembelahan dan morfogenesis sel atau jaringan yang mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan kultur (Dodds dan Roberts, 1985). Hapsari (2017) dalam penelitiannya menyatakan bahwa pada media MS tanpa penambahan sitokinin maupun dengan penambahan sitokinin BAP dan kinetin, secara umum respon pertumbuhan tunas tak terendah diperoleh pada media yang mengandung 4% dan 6% manitol. Manitol merupakan gula alkohol yang memengaruhi osmolaritas media (Shibli *et al.*, 2006). Charoensub dan Phansiri (2004) mendapatkan bahwa perlakuan mannitol pada konsentrasi 40 dan 60 g L⁻¹ cenderung menurunkan multiplikasi tunas pada biakan *Plumbago indica*. Didukung oleh Dewi (2014) yang pada penelitiannya didapatkan data

bahwa tidak ada akar yang tumbuh pada perlakuan mannitol, kecuali pada kontrolnya (M0) saat 16 MST.

Pada kultur *in vitro* tanaman, pada umumnya diberikan sukrosa pada media kultur sebagai sumber energi utama untuk menyusun rangka karbon sebagai penyusun metabolit dan struktur-struktur pada tanaman (Hapsoro *et al.*, 2012). Penambahan sukrosa pada media MS yang diencerkan didapatkan respon laju pertumbuhan jumlah tunas, jumlah daun dan jumlah akar yang tidak nyata jika dibandingkan dengan perlakuan MS. Namun hasil yang berbeda didapatkan pada karakter panjang planlet dan panjang akar dimana penambahan sukrosa pada media MS yang diencerkan justru meningkatkan pertumbuhan planlet dan akar pada bawang dayak. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Abdulwahed (2013) bahwa penambahan konsentrasi sukrosa 50 g l⁻¹ dapat memperpanjang akar dan perpanjangannya sekitar 7 cm dibandingkan dengan kontrol (penambahan sukrosa 20 g l⁻¹).

Paclobutrazol merupakan senyawa retardan yang di dalam jaringan tanaman ditranslokasikan secara akropetal melalui jaringan xilem sehingga dapat menghambat pemanjangan sel pada meristem terminal dan mengurangi laju pemanjangan batang (Cathey, 1975). Selain itu menurut Sabda dan Dewi (2016) paclobutrazol menghambat fotosintesis dan respirasi biakan yang menyebabkan perkembangan daun terhambat. Pada penelitian ini, penambahan paclobutrazol dengan berbagai konsentrasi tidak menunjukkan penghambatan laju pertumbuhan pada seluruh karakter yang diamati. Penambahan paclobutrazol justru meningkatkan laju pertumbuhan hingga akhir pengamatan jika dibandingkan dengan perlakuan kontrol maupun perlakuan media yang diencerkan kemudian ditambahkan dengan sukrosa. Hal ini sesuai dengan pernyataan Syahid (2007) bahwa pada kultur temulawak, produksi akar tidak mengalami penghambatan meskipun peran dari paclobutrazol adalah sebagai penghambat pertumbuhan tanaman. Hal tersebut mungkin dikarenakan terdapat kandungan auksin dalam jaringan eksplan bawang dayak. Menurut George dan Sherrington (1984), auksin dalam konsentrasi tinggi dapat menghambat pertumbuhan mata tunas, namun auksin dalam jumlah rendah justru merangsang pemanjangan sel, pembentukan kalus dan pembentukan akar.

Penambahan paclobutrazol pada media tumbuh menyebabkan warna daun yang tumbuh pada planlet bawang dayak berwarna lebih hijau daripada perlakuan lain. Semakin tinggi konsentrasi paclobutrazol, warna daun akan terlihat hijau tua. Hal ini sesuai dengan pendapat Dewi (2014) bahwa dalam penelitiannya pada jeruk besar, warna daun tampak semakin hijau seiring dengan peningkatan taraf konsentrasi yang diberikan. Syahid (2007) bahwa penambahan paclobutrazol ke dalam tanaman mampu mereduksi perubahan ketegaran batang dan daun, warna batang dan daun yang terlihat lebih hijau. Didukung oleh Sabda dan Dewi (2016) bahwa penambahan paclobutrazol menyebabkan batang tanaman biakan belitung terlihat tegar dan kuat serta warna daun lebih hijau. Penambahan paclobutrazol dapat menghambat biosintesis GA3 dan dapat meningkatkan warna hijau pada daun (Wattimena, 1988).



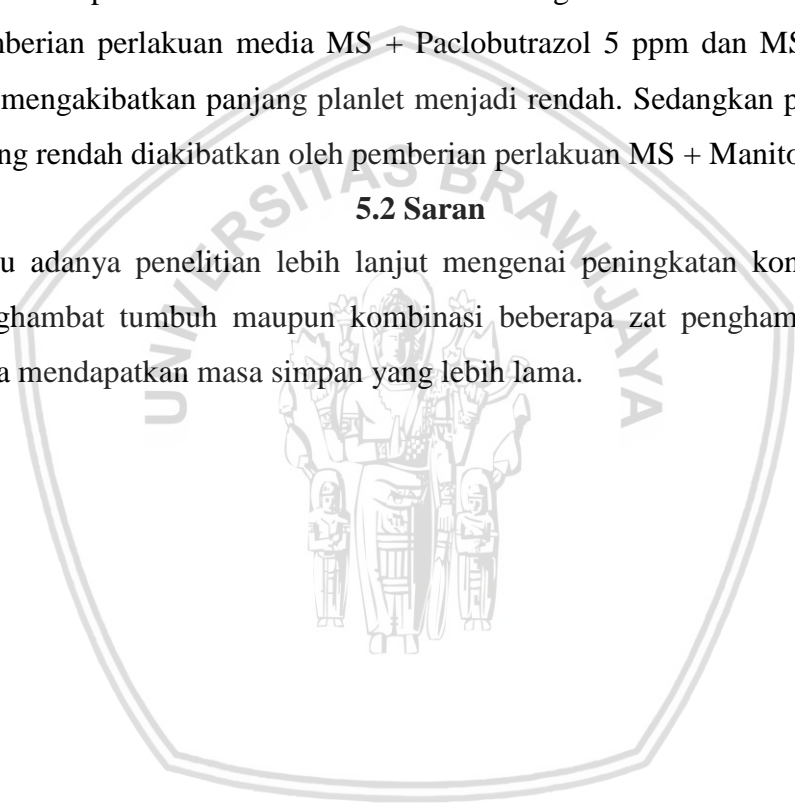
5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Perlakuan kombinasi media MS dengan Paclobutrazol 3 ppm dapat menghambat kemunculan akar lebih lama, sedangkan kemunculan tunas dapat dihambat oleh perlakuan kombinasi media MS dengan Manitol, baik dengan konsentrasi 2% maupun 4%.
2. Laju pertumbuhan tanaman yang rendah meliputi jumlah tunas, jumlah daun dan jumlah akar pada masa penyimpanan planlet bawang dayak akibat pemberian perlakuan kombinasi media MS dengan Manitol 2%
3. Pemberian perlakuan media MS + Paclobutrazol 5 ppm dan MS + Manitol 4% mengakibatkan panjang planlet menjadi rendah. Sedangkan panjang akar paling rendah diakibatkan oleh pemberian perlakuan MS + Manitol 4%.

5.2 Saran

1. Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai peningkatan konsentrasi zat penghambat tumbuh maupun kombinasi beberapa zat penghambat tumbuh guna mendapatkan masa simpan yang lebih lama.



DAFTAR PUSTAKA

- Abdulwahed, M. S. 2013. Identification of The Effect of Different Levels of Activated Charcoal and Sucrose on Multiplication Shoots of Date Palm *Phoenix dactylifera* L.C.V. Sufedy In Vitro. *Journal of Horticulture and Forestry*. 5(9): 139 – 145.
- Anonimous. 2016. Bawang dayak [online]. <https://www.academia.edu/50025-64/BawangDayak>. Diakses 16 Februari 2016
- Anonimous. 2017. Botani Bawang sabrang (*Eleutherine americana*) [online]. http://www.warintek.ristek.go.id/pangan_kesehatan-/tanaman_obat/depkes/1112.df. 2007. Diakses 15 Februari 2017.
- Anonimous. 2018. *Eleutherine americana* [online]. <http://www.zipcodezoo.com-Plants/E/Eleutherineamericana/#Description>. Diakses 16 Agustus 2018
- Agustarini, R. 2009. Enkapsulasi untuk Konservasi *In vitro* *Pimpinella pruatjan* Molk. Efek Cahaya dan Kombinasi Media. Thesis. IPB. Bogor.
- Akbar, M. A., E. Faridah, S. Indrioko, dan T. Herawan. 2017. Induksi Tunas, Multiplikasi dan Perakaran *Gyrinops versteegii* (Gilg.) Domke Secara *In Vitro*. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*. 11(1): 155 – 168.
- Alitalia, Y. 2008. Pengaruh Pemberian BAP dan NAA Terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Tunas Mikro Kantong Semar (*Nepenthes mirabilis*) Secara *In Vitro*. Skripsi. IPB. Bogor.
- Anggraini L. T. 2013. Pengaruh Jarak Tanam dan Pemberian Kompos Jerami Padi Terhadap Pertumbuhan dan Produksi Bawang Sabrang (*Eleutherine americana* Merr.). skripsi. USU.
- Atun, S. 2010. Pemanfaatan Bahan Alam Bumi Indonesia Menuju Riset yang Berkualitas Internasional. Universitas Negeri Yogyakarta.
- Ayşe, G. N. dan G. D. Ismail. 2014. An Alternative Plant Propagation and Conservation Process for *Iris Pampylica* an Endemic and Endangered Geophyte. Fifth International Scientific Agricultural Symposium. AGSY 14(04):346N
- Bapat, V. A. and P. S. Rao. 1988. Sandalwood Plantlet from Syntetic Seeds. *Plant Cell Rep.* 7: 434 – 436.
- Campbell, N. A., J. B. Reece, dan L. G. Mitchel. 2003. Biologi Edisi Kelima Jilid II. Erlangga. Jakarta.
- Caponetti, J. D., D. J. Gray, dan R. N. Trigiano. 2005. History of plant tissue and cell culture. In R. Trigiano and D. J. Gray (Eds.) *Plant Development and Biotechnology*. CRC Press. New York. p 9-15.
- Cathey, H. M. 1975. Comparative Plant Growth-Retarding Activities of Ancymidol with ACPC, Phosphon, Chlormequat, and SADH on Ornamental Plant Species. *HortScience*. 10(3): 204 – 215.
- Chaney, W. R. 2004. Paclobutrazol: More Than Just A Growth Retardant. Presented At Pro-Hart Conference. Peoria. Illinois. p. 120.

- Chaorensu, R. and S. Phansiri. 2004. In Vitro Conservation of Rose Coloured Leadwort: Effect of Mannitol on Growth of Plantlets. *Kasetsart J. Nat. Sci.* 38: 97 – 102.
- Chawla H. S. 2002. *Introduction to Plant Biotechnology*. 2nd Edition. USA: Science Publishers Inc.
- Deguchi, M., Y. Koshita, M. Gao, R. Tao, T. Tetsumura, S. Yamaki, and Y. Kanayama. 2004. Engineered Sorbitol Accumulation Induces Dwarfism in Japanese Persimmon. *J. Plant Physiol.* 161: 1177 – 1184.
- Dewi, I. S., G. S. Jawak, B. S. Purwoko, dan M. Sabda. 2014. Respon Pertumbuhan Kultur *In Vitro* Jeruk Besar (*Citrus maxima* (Burm.) Merr.) cv. Nambangan terhadap Osmotikum dan Retardan. *J. Hort. Indonesia* 5(1): 21 – 28.
- Dewi, N. 2002. Perbanyak dan Pelestarian Plasma Nutfah Talas (*Colocasia esculenta* (L.) Schoot) Secara *In Vitro*. Thesis. IPB. Bogor.
- Dinarti, D. 2012. Perbanyak Dan Induksi Umbi Lapis Mikro Bawang Merah Secara *In Vitro*. Disertasi. IPB. Bogor.
- Dodds, J. H. and L. W. Roberts. 1985. *Experiments in Plant Tissue Culture*. 2nd ed. Cambridge University Press. Cambridge. UK.
- Engelmann, F. 1991. In Vitro Conservation of Tropical Plant Germplasm - A Review. *Euphytica*. 57: 227 – 243.
- Galingging, R.Y. 2007. Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*) Sebagai tanaman Obat Multifungsi. BPTP, Kalimantan Tengah.
- Gamborg, O. L. and G. C. Phillips. 1995. Media Preparation and Handling. in Gamborg, O. L. and G.C. Phillips (Eds.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture: Fundamental Methods*. Springer. Germany. p. 21 – 34.
- George, E. F. and P. D. Sherrington. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture*. Exegetic Ltd. Eversley. Basingstoke. UK.
- Gunawan, L.W. 1995. Teknik Kultur Raringan Tanaman. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman. Pusat Antar Universitas (PAU) Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Hapsari, B. W., A. F. Martin, dan T. M. Ermayanti. 2017. Pertumbuhan Kultur Tunas Taka pada Media MS yang Mengandung Sitokinin dan Manitol untuk Konservasi *In Vitro*. Prosiding Seminar Nasional 2017 Fakultas Pertanian UMJ “Pertanian dan Tanaman Herbal Berkelanjutan di Indonesia”. 8 November 2017. p. 35 – 43.
- Hapsoro, D., D. Saputra, dan Y. Yusnita. 2012. Pengaruh Konsentrasi Benziladenin dan Sukrosa terhadap Multiplikasi Tunas Pisang Raja Bulu (AAB) *In Vitro*. Paper. Fakultas Pertanian Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Harjadi, S.S. 2009. *Zat Pengatur Tumbuh*. Penebar Sawadaya. Jakarta. Pp 76.

- Hendaryono, D. P. S. dan A. Wijayani. 1994. Teknik Kultur Jaringan, Pengenalan dan Petunjuk Perbanyakan Tanaman Secara Vegetatif-Modern. Kanisius. Yogyakarta.
- Herlina, D. dan K. Dwiatmini. 1996. Peran Zat Pengatur Tumbuh dan Dosis Pupuk Organik terhadap Induksi Pembungaan Melati (*Jasminum sambac*) sebagai Tanaman Pot. Laporan Penelitian Balai Penelitian Tanaman Hias. Jakarta. 14 hal.
- Ibrahim, M.S.D. 2006. Pengaruh pemberian paclobutrazol terhadap pertumbuhan bangle (*Zingiber purpureum*) dalam penyimpanan *in vitro*. Buletin Tanaman Rempah dan Obat, Bogor, XVI (2) : 49-55.
- Indrawati, N. Luh dan Razimin. 2013. Bawang Dayak. PT Agromedia Pustaka. Jakarta. pp 146.
- Keller, E. R. J., A. Senula, S. Leunufna, and M. Grube. 2006. Slow Growth Storage and Cryopreservation-Tools to Facilitate Germplasm Maintenance of Vegetatively Propagated Crops in Living Plant Collections. Int. J. Refrig. 29: 411 – 417.
- Kristina, N. N. 2004. Pengaruh Penurunan Unsur Makro Dan Pemberian Absisic Acid Terhadap Multiplikasi Tunas Tapak Dara (*Vinca Rosea*) Secara *In Vitro*. Balai Penelitian Tanaman Rempah Dan Obat.
- Laisina, J. K. J. 2009. Pelestarian Secara *In Vitro* Melalui Metode Pertumbuhan Minimal Pada Beberapa Genotipe Ubi Jalar (*Ipomea batatas* (L) Lam). Tesis. IPB. Bogor.
- Lasmita, L. 1989. Pengaruh BAP dan NAA pada Pertumbuhan dan Perkembangan Pucuk *Gladiolus hybridus* dalam Kultur Aseptik. Skripsi. IPB. Bogor
- Lestari, E. G. 2011. Peranan Zat Pengatur Tumbuh dalam Perbanyakan Tanaman melalui Kultur Jaringan. *AgroBiogen* 7(1):63-68.
- _____ dan R. Purnamaningsih. 2005. Penyimpanan *in vitro* tanaman obat daun dewa melalui pertumbuhan minimal. *AgroBiogen* 1(2):68-72.
- _____ dan Y. Supriyati. 2001. Penyimpanan Temu Putri (*Curcuma petiolata* Roxb.) melalui Pertumbuhan Minimal. *BioSMART* 3(1): 24-28.
- Mariska, I. dan D. Sukmadjaja. 2003. Perbanyakan Bibit Abaka Melalui Kultur Jaringan. Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian [online]. http://biogen.litbang.deptan.go.id/terbitan/pdf/Buku_Abaka.pdf. Diakses 16 Februari 2017.
- Maryani, Y. dan Zamroni. 2005. Penggandaan melalui kultur jaringan. [http://agrisci.ugm.ac.id. Diakses pada 14 November 2007]. Pertanian. Bogor, 18 Desember 1996. Balitbio. Bogor.
- Menhennet, R. 1979. Use of Glass House Crops. Recent Development in The Use of Plant Growth Retardans. dalam Pratama, R. Y. 2017. Variasi Retardan Paclobutrazol dalam Media VW (Vacin & Went) terhadap Viabilitas Biji Sintetik *Dendrobium* Sp. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatera Utara. Medan.

- Mir, J. I., Ahmed N., Wajida S., Uzma N. S., S. Zaffar, dan Irfan R. 2014. *In vitro* Development and regeration of microcorms in saffron (*Crocus sativus* L). African Journal of biotech. 13(26) 2637-2640.
- Mujica, H. dan N. Magollon. 2004. *Bulbing in vitro of garlic (Allium sativum L.) with addition of cytokinins and sucrose in the culture medium*. Bipagro. 16 (1): 55-60.
- Noorrohmah, S., A. Wulansari, A. Fadillah, dan M. Ermayanti. 2015. Preservasi Tiga Kultivar Talas (*Colocasia esculenta* (L.) Schott secara *In Vitro* dengan Perlakuan Asam Absisat pada Suhu Rendah dan Suhu Ruang. Seminar Nasional Bioteknologi III Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. p. 326 – 350.
- Pratama, R. Y. 2017. Variasi Retardan Paclobutrazol dalam Media VW (Vacin & Went) terhadap Viabilitas Biji Sintetik *Dendrobium* Sp. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Priatna, C. 2004. Pengaruh 2iP dan Air Kelapa Terhadap Multiplikasi Tunas Bawang Merah (*Alliufiz ascalonicum* L.) Kultivar Sumenep Secara *In Vitro*. Skripsi. IPB. Bogor.
- Purnomo dan Prahadini. 1991. Pengaruh Saat Aklimatisasi dan Konsentrasi Paclobutrazol Selama Dua Musim Panen Apel (*Malus syvestris* Mill). Jurnal Hortikultura. 1(2): 58 – 68.
- Purohit, S.S. 1986. Hormonal regulation of plant growth and development Volume III [online]. Agro Botanical Publishers. <http://www.OVPg.org/-98otrios.htm>. Diakses 17 Maret 2015.
- Rademacher, E. 2000. Growth Retardants: Effects on Gibberellin Biosynthesis and Other Metabolic Pathway. Ann. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol. 51: 501 – 531.
- Sabda, M. dan N. Dewi. 2016. Multiplikasi Tunas dan Konservasi In Vitro Tanaman Belitung (*Xanthosoma sagittifolium* [L.] Schott) dengan Metode Pertumbuhan Minimal. Jurnal AgroBiogen. 12(2): 101 – 108.
- Saptowalyono, C. A. 2015. Bawang Dayak, Tanaman Obat Kanker Yang Belum Tergarap. [online]. www.kompas.com. Diakses 16 februari 2015.
- Sarwar, M and S. U. Siddiqui. 2004. *In vitro* conservation of sugarcane (*Saccharum officinarum*) germplasm. National Agricultural Research Centre Pakistan. J. Bot., 36 (3): 549-556.
- Septiari, A. M. 2003. Pengaruh 2iP dan NAA terhadap Multlipikasi Tunas Bawang Merah Kultivar Sumenep dalam Kultur *In Vitro*. (Skripsi). Fakultas Pertanian. IPB. Bogor.
- Shibli, R. A., M. A. Shatnawi, W. S. Subaih, and M. M. Ajlouni. 2006. In Vitro Conservation and Cryopreservation of Plant Genetic Resources: Review. World J. Agric. Sci. 2(4): 372 – 282.

- Siregar, D. S. 2013. Respons Pertumbuhan dan Produksi Bawang Sabrang (*Eleutherine americana* Merr.) terhadap Pembelahan Umbi dan Perbandingan Media tanam. Skripsi. USU.
- Sitepu, R. 2007. Respon Petumbuhan dan Produksi Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum* L.) terhadap Pupuk Kalium dan Paclobutrazol. Skripsi. Universitas Sumatera Utara. Medan. 67 hal.
- Suek, R. E. 2011. Penyimpanan *In Vitro* dengan Teknik Pertumbuhan Minimal dan Regenerasi Pasca Penyimpanan Kultur Purwoceng (*Pimpinella pruatjan* Molk.). Skripsi. IPB. Bogor.
- Sukmawati, F. dan E. Darda. 2009. Induksi Embrio Somatik Melon (*Cucumis melo* L.) Pada Berbagai Media Dan Zat Pengatur Tumbuh. Makalah seminar Departemen Agronomi dan ortikultura Fakultas Pertanian – Institut Pertanian Bogor.
- Sunarlim, N., M. Kosmiatin, I. Mariska, Hadiatmi, I.R. Tambunan, dan S. Rahayu. 2001. Penyimpanan Tanaman Ubi-ubian dengan Metode Pertumbuhan Minimal dan Kriopreservasi. Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman. p. 89 – 100.
- Syahid, S. F. 2007. Pengaruh Retardan Paclobutrazol terhadap Pertumbuhan Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) Selama Konservasi *In Vitro*. Jurnal Litri. 13(3): 93 – 97.
- Wahyuni, S. 2010. Evaluasi Karakter Morfologi Purwoceng (*Pimpinella pruatjan* molk.) Generasi M2 Hasil Induksi Mutasi Sinar Gamma di Cicurug dan Cibadak. Skripsi. IPB. Bogor.
- Wattimena, G. A. 1988. Zat Pengatur Tumbuh Tanaman. Bioteknologi. Pusat Antar Universitas. Institut Pertanian Bogor. Bogor. pp. 145.
- Yelli, F. 2013. Induksi Pembentukan Kantong dan Pertumbuhan Dua Spesies Tanaman Kantong Semar (*Nepenthes spp.*) Pada Berbagai Konsentrasi Media Ms Secara *In Vitro*. J. Agrotropika 18(2): 56-62.
- Yelnititis dan N. Bermawie. 2001. Konservasi Tanaman Lada (*Piper nigrum* L.) Secara *In-vitro*. J. Litri. 7(3).
- Yudhanto, A. S. 2012. Pengaruh Kombinasi NAA Dengan Sitokinin (BAP, Kinetin dan 2iP) Terhadap Daya Proliferasi Tanaman Kantong Semar (*Nepenthes mirabilis*) Secara *In Vitro*. Skripsi. IPB. Bogor.
- Yuwono, T. 2006. Bioteknologi Pertanian. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.

LAMPIRAN

1. Komposisi media MS untuk 1 L media kultur jaringan bawang dayak

Senyawa	Konsentrasi dalam media MS (mg/L)	Keterangan
Makro:		Dibuat larutan stok dengan kepekatan
NH ₄ NO ₃	1650	10 x
KNO ₃	1900	
CaCl ₂ 2H ₂ O	440	
MgSO ₄ 7 H ₂ O	370	
KH ₂ PO ₄	170	
Mikro:		Dibuat larutan stok dengan kepekatan
MnSO ₄ H ₂ O	4,46	100 x
ZnSO ₄ 7 H ₂ O	1,72	
H ₂ BO ₃	1,24	
KI	0,166	
Na ₂ MoO ₄ 2 H ₂ O	0,05	
CoCl ₂ 6H ₂ O	0,005	
CuSO ₄ 5H ₂ O	0,005	
Vitamin:		Dibuat larutan stok dengan kepekatan
Thiamine HCL	0,1	100 x
Nicotine acid	0,5	
Pyridoxine HCL	0,5	
Glycine	2	
Fe EDTA:		Dibuat larutan stok dengan kepekatan
Na ₂ EDTA	37,3	100 x
FeSO ₄ 7H ₂ O	27,8	
Myo-inositol	100	Dibuat larutan stok dengan kepekatan
		100 x
ZPT:		Dibuat larutan stok masing-masing dengan kepekatan
BAP	2	100 x
Sukrosa	30000	
Agar-agar	6800	

2. Perhitungan Kebutuhan ZPT

$$\begin{aligned}\text{Sukrosa 6\%} &= \frac{6}{100} \times 1000 \text{ ml} \\ &= 60 \text{ g}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Manitol 2\%} &= \frac{2}{100} \times 1000 \text{ ml} \\ &= 20 \text{ g}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Manitol 4\%} &= \frac{4}{100} \times 1000 \text{ ml} \\ &= 40 \text{ g}\end{aligned}$$

Paclobutrazol

$$1 \text{ ppm} = \frac{1000 \text{ mg}}{1000 \text{ L}} = \frac{1 \text{ g}}{1000 \text{ L}} = \frac{0,001 \text{ g}}{1 \text{ L}}$$

$$3 \text{ ppm} = 3 \times \frac{0,001 \text{ g}}{1 \text{ L}} = \frac{0,003 \text{ g}}{1 \text{ L}}$$

$$5 \text{ ppm} = 5 \times \frac{0,001 \text{ g}}{1 \text{ L}} = \frac{0,005 \text{ g}}{1 \text{ L}}$$

3. Analisis ragam waktu kemunculan tunas, waktu kemunculan akar, jumlah tunas, jumlah daun, jumlah akar, panjang tanaman, panjang akar.

Tabel 1. Analisis ragam waktu kemunculan tunas

SK	db	JK	KT	F hit	F tabel	
					0.05	0.01
Perlakuan	6	751.21	125.20	80.90**	2.57	3.81
Galat	21	32.50	1.55			
Total	27	783.71	29.03			

Ket: tn= tidak berbeda nyata, *= berbeda nyata, **= sangat berbeda nyata

Tabel 2. Analisis ragam waktu kemunculan akar

SK	db	JK	KT	F hit	F tabel	
					0.05	0.01
Perlakuan	6	243.50	40.58	12.96**	2.57	3.81
Galat	21	65.75	3.13			
Total	27	309.25	11.45			

Ket: tn= tidak berbeda nyata, *= berbeda nyata, **= sangat berbeda nyata

Tabel 3. Analisis ragam jumlah tunas pada umur 3 MST

SK	db	JK	KT	F hit	F tabel	
					0.05	0.01
Perlakuan	6	10.03	1.67	250.71**	2.57	3.81
Galat	21	0.14	0.01			
Total	27	10.17	0.38			

Ket: tn= tidak berbeda nyata, *= berbeda nyata, **= sangat berbeda nyata

Tabel 4. Analisis ragam jumlah tunas pada umur 4 MST

SK	db	JK	KT	F hit	F tabel	
					0.05	0.01
Perlakuan	6	22.29	3.72	48.54**	2.57	3.81
Galat	21	1.61	0.08			
Total	27	23.90	0.89			

Ket: tn= tidak berbeda nyata, *= berbeda nyata, **= sangat berbeda nyata

Tabel 5. Analisis ragam jumlah tunas pada umur 5 MST

SK	db	JK	KT	F hit	F tabel	
					0.05	0.01
Perlakuan	6	24.74	4.12	33.14**	2.57	3.81
Galat	21	2.61	0.12			
Total	27	27.35	1.01			

Ket: tn= tidak berbeda nyata, *= berbeda nyata, **= sangat berbeda nyata

Tabel 6. Analisis ragam jumlah tunas pada umur 6 MST

SK	db	JK	KT	F hit	F tabel	
					0.05	0.01
Perlakuan	6	55.96	9.33	78.26**	2.57	3.81
Galat	21	2.50	0.12			
Total	27	58.46	2.17			

Ket: tn= tidak berbeda nyata, *= berbeda nyata, **= sangat berbeda nyata

Tabel 7. Analisis ragam jumlah tunas pada umur 7 MST

SK	db	JK	KT	F hit	F tabel	
					0.05	0.01
Perlakuan	6	141.73	23.62	215.21**	2.57	3.81
Galat	21	2.31	0.11			
Total	27	144.04	5.33			

Ket: tn= tidak berbeda nyata, *= berbeda nyata, **= sangat berbeda nyata

Tabel 8. Analisis ragam jumlah tunas pada umur 8 MST

SK	db	JK	KT	F hit	F tabel	
					0.05	0.01
Perlakuan	6	236.60	39.43	299.23**	2.57	3.81
Galat	21	2.77	0.13			
Total	27	239.37	8.87			

Ket: tn= tidak berbeda nyata, *= berbeda nyata, **= sangat berbeda nyata

Tabel 9. Analisis ragam jumlah tunas pada umur 9 MST

SK	db	JK	KT	F hit	F tabel	
					0.05	0.01
Perlakuan	6	384.94	64.16	563.72**	2.57	3.81
Galat	21	2.39	0.11			
Total	27	387.33	14.35			

Ket: tn= tidak berbeda nyata, *= berbeda nyata, **= sangat berbeda nyata

Tabel 10. Analisis ragam jumlah tunas pada umur 10 MST

SK	db	JK	KT	F hit	F tabel	
					0.05	0.01
Perlakuan	6	659.03	109.84	1074.09**	2.57	3.81
Galat	21	2.15	0.10			
Total	27	661.18	24.49			

Ket: tn= tidak berbeda nyata, *= berbeda nyata, **= sangat berbeda nyata

Tabel 11. Analisis ragam jumlah daun pada umur 3 MST

SK	db	JK	KT	F hit	F tabel	
					0.05	0.01
Perlakuan	6	10.03	1.67	250.71**	2.57	3.81
Galat	21	0.14	0.01			
Total	27	10.17	0.38			

Ket: tn= tidak berbeda nyata, *= berbeda nyata, **= sangat berbeda nyata

Tabel 12. Analisis ragam jumlah daun pada umur 4 MST

SK	db	JK	KT	F hit	F tabel	
					0.05	0.01
Perlakuan	6	43.22	7.20	230.92**	2.57	3.81
Galat	21	0.65	0.03			
Total	27	43.87	1.62			

Ket: tn= tidak berbeda nyata, *= berbeda nyata, **= sangat berbeda nyata

Tabel 13. Analisis ragam jumlah daun pada umur 5 MST

SK	db	JK	KT	F hit	F tabel	
					0.05	0.01
Perlakuan	6	76.51	12.75	383.95**	2.57	3.81
Galat	21	0.70	0.03			
Total	27	77.21	2.86			

Ket: tn= tidak berbeda nyata, *= berbeda nyata, **= sangat berbeda nyata

Tabel 14. Analisis ragam jumlah daun pada umur 6 MST

SK	db	JK	KT	F hit	F tabel	
					0.05	0.01
Perlakuan	6	326.22	54.37	1968.56**	2.57	3.81
Galat	21	0.58	0.03			
Total	27	326.80	12.10			

Ket: tn= tidak berbeda nyata, *= berbeda nyata, **= sangat berbeda nyata

Tabel 15. Analisis ragam jumlah daun pada umur 7 MST

SK	db	JK	KT	F hit	F tabel	
					0.05	0.01
Perlakuan	6	969.37	161.56	1099.77**	2.57	3.81
Galat	21	3.09	0.15			
Total	27	972.45	36.02			

Ket: tn= tidak berbeda nyata, *= berbeda nyata, **= sangat berbeda nyata

Tabel 16. Analisis ragam jumlah daun pada umur 8 MST

SK	db	JK	KT	F hit	F tabel	
					0.05	0.01
Perlakuan	6	2002.24	333.71	7150.85**	2.57	3.81
Galat	21	0.98	0.05			
Total	27	2003.22	74.19			

Ket: tn= tidak berbeda nyata, *= berbeda nyata, **= sangat berbeda nyata

Tabel 17. Analisis ragam jumlah daun pada umur 9 MST

SK	db	JK	KT	F hit	F tabel	
					0.05	0.01
Perlakuan	6	3769.12	628.19	16236.20**	2.57	3.81
Galat	21	0.81	0.04			
Total	27	3769.93	139.63			

Ket: tn= tidak berbeda nyata, *= berbeda nyata, **= sangat berbeda nyata

Tabel 18. Analisis ragam jumlah daun pada umur 10 MST

SK	db	JK	KT	F hit	F tabel	
					0.05	0.01
Perlakuan	6	7298.96	1216.49	11827.03**	2.57	3.81
Galat	21	2.16	0.10			
Total	27	7301.12	270.41			

Ket: tn= tidak berbeda nyata, *= berbeda nyata, **= sangat berbeda nyata

Tabel 19. Analisis ragam jumlah akar pada umur 3 MST

SK	db	JK	KT	F hit	F tabel	
					0.05	0.01
Perlakuan	6	4.75	0.79	3.54*	2.57	3.81
Galat	21	4.70	0.22			
Total	27	9.45	0.35			

Ket: tn= tidak berbeda nyata, *= berbeda nyata, **= sangat berbeda nyata

Tabel 20. Analisis ragam jumlah akar pada umur 4 MST

SK	db	JK	KT	F hit	F tabel	
					0.05	0.01
Perlakuan	6	17.59	2.93	5.12**	2.57	3.81
Galat	21	12.03	0.57			
Total	27	29.62	1.10			

Ket: tn= tidak berbeda nyata, *= berbeda nyata, **= sangat berbeda nyata

Tabel 21. Analisis ragam jumlah akar pada umur 5 MST

SK	db	JK	KT	F hit	F tabel	
					0.05	0.01
Perlakuan	6	56.26	9.38	4.37**	2.57	3.81
Galat	21	45.01	2.14			
Total	27	101.27	3.75			

Ket: tn= tidak berbeda nyata, *= berbeda nyata, **= sangat berbeda nyata

Tabel 22. Analisis ragam jumlah akar pada umur 6 MST

SK	db	JK	KT	F hit	F tabel	
					0.05	0.01
Perlakuan	6	129.60	21.60	5.97**	2.57	3.81
Galat	21	75.95	3.62			
Total	27	205.55	7.61			

Ket: tn= tidak berbeda nyata, *= berbeda nyata, **= sangat berbeda nyata

Tabel 23. Analisis ragam jumlah akar pada umur 7 MST

SK	db	JK	KT	F hit	F tabel	
					0.05	0.01
Perlakuan	6	222.47	37.08	7.64**	2.57	3.81
Galat	21	101.94	4.85			
Total	27	324.41	12.02			

Ket: tn= tidak berbeda nyata, *= berbeda nyata, **= sangat berbeda nyata

Tabel 24. Analisis ragam jumlah akar pada umur 8 MST

SK	db	JK	KT	F hit	F tabel	
					0.05	0.01
Perlakuan	6	318.64	53.11	8.56**	2.57	3.81
Galat	21	130.31	6.21			
Total	27	448.95	16.63			

Ket: tn= tidak berbeda nyata, *= berbeda nyata, **= sangat berbeda nyata

Tabel 25. Analisis ragam jumlah akar pada umur 9 MST

SK	db	JK	KT	F hit	F tabel	
					0.05	0.01
Perlakuan	6	454.65	75.78	11.99**	2.57	3.81
Galat	21	132.72	6.32			
Total	27	587.37	21.75			

Ket: tn= tidak berbeda nyata, *= berbeda nyata, **= sangat berbeda nyata

Tabel 26. Analisis ragam jumlah akar pada umur 10 MST

SK	db	JK	KT	F hit	F tabel	
					0.05	0.01
Perlakuan	6	630.70	105.12	16.48**	2.57	3.81
Galat	21	133.93	6.38			
Total	27	764.63	28.32			

Ket: tn= tidak berbeda nyata, *= berbeda nyata, **= sangat berbeda nyata

Tabel 27. Analisis ragam panjang tanaman

SK	db	JK	KT	F hit	F tabel	
					0.05	0.01
Perlakuan	6	262.57	43.76	769.07**	2.57	3.81
Galat	21	1.19	0.06			
Total	27	263.76	9.77			

Ket: tn= tidak berbeda nyata, *= berbeda nyata, **= sangat berbeda nyata



Tabel 28. Analisis ragam panjang akar



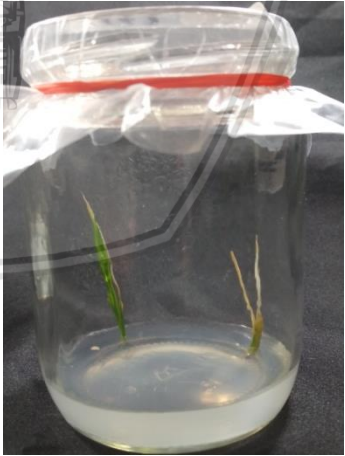
SK	db	JK	KT	F hit	F tabel	
					0.05	0.01
Perlakuan	6	631.83	105.31	390.77**	2.57	3.81
Galat	21	5.66	0.27			
Total	27	637.49	23.61			

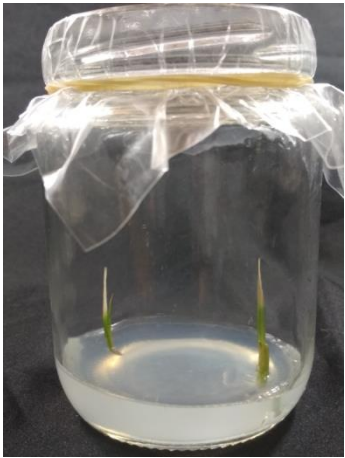
Ket: tn= tidak berbeda nyata, *= berbeda nyata, **= sangat berbeda nyata

4. Dokumentasi Penelitian



Tabel 1. Pertumbuhan planlet bawang dayak pada umur 70 HST



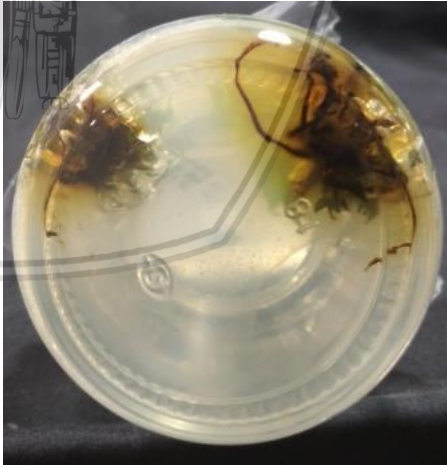
Perlakuan	Planlet
P1 (MS)	
P2 (½ MS + Sukrosa 6%)	
P3 (MS + Paclobutrazol 1 ppm)	

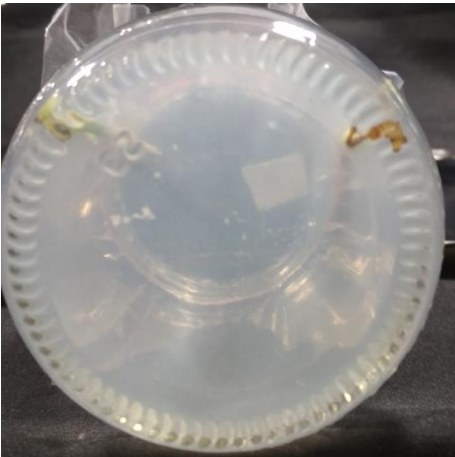

<p>P4 (MS + Paclobutrazol 3 ppm)</p>	
<p>P5 (MS + Paclobutrazol 5 ppm)</p>	
<p>P6 (MS + Manitol 2%)</p>	

P7 (MS + Manitol 4%)	
----------------------	--


Tabel 2. Perakaran planlet bawang dayak pada umur 70 HST




Perlakuan	Planlet
P1 (MS)	
P2 (½ MS + Sukrosa 6%)	




<p>P3 (MS + Paclobutrazol 1 ppm)</p>	
<p>P4 (MS + Paclobutrazol 3 ppm)</p>	
<p>P5 (MS + Paclobutrazol 5 ppm)</p>	

P6 (MS + Manitol 2%)	
P7 (MS + Manitol 4%)	

Tabel 3. Planlet bawang dayak pada saat dikeluarkan dari botol kultur

Perlakuan	Planlet
P1 (MS)	

<p>P2 ($\frac{1}{2}$ MS + Sukrosa 6%)</p>	
<p>P3 (MS + Paclobutrazol 1 ppm)</p>	
<p>P4 (MS + Paclobutrazol 3 ppm)</p>	

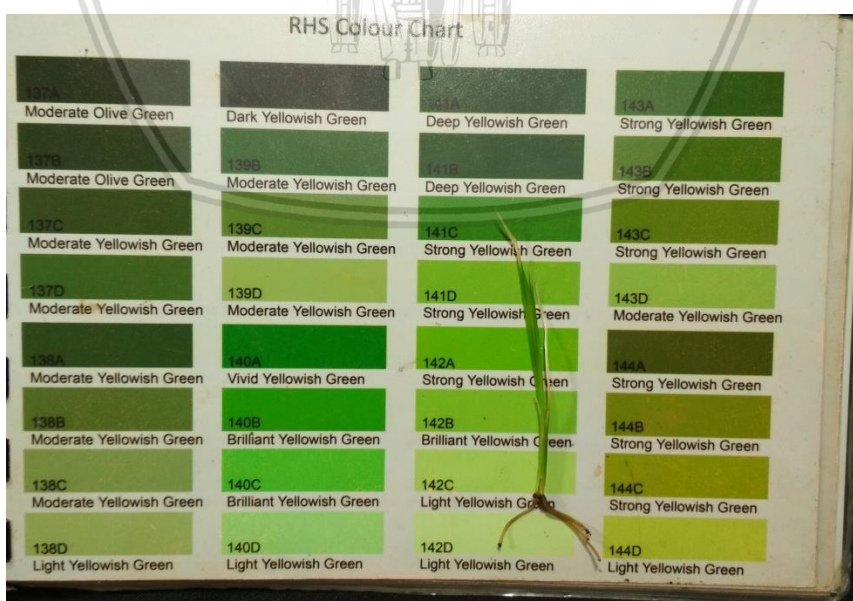
<p>P5 (MS + Paclobutrazol 5 ppm)</p>	
<p>P6 (MS + Manitol 2%)</p>	
<p>P7 (MS + Manitol 4%)</p>	



Gambar 1. Planlet bawang dayak siap perlakuan



Gambar 2. Pemeliharaan kultur didalam ruang inkubasi



Gambar 3. Perbandingan warna daun menggunakan RHS colour chart